



УДК 577.152.321 : 577.113.5

**ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА ПОЛНОРАЗМЕРНОЙ ДНК-КОПИИ
ГЕНА НЕЙРАМИНИДАЗЫ АНТИГЕННОГО ПОДТИПА N7
ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ**

*Гринев А. А., Петров Н. А., Головин С. Я.,
Мамаев Л. В., Микрокова Т. П., Нетесов С. В.,
Василенко С. К.*

*Всесоюзный научно-исследовательский институт
молекулярной биологии, пос. Кольцово Новосибирской обл.*

Нейраминидаза — один из двух поверхностных гликопротеинов вируса гриппа. Ее молекула представляет собой тетрамер идентичных субъединиц и проявляет ферментативную активность, отщепляя концевой остаток N-ацетилнейраминовой (сиаловой) кислоты от различных субстратов. Основной функцией нейраминидазы считается устранение остатков сиаловой кислоты с поверхности вириона и инфицированной клетки для предотвращения агрегации вирусных частиц. Наряду с этим нейраминидаза участвует в процессах слияния мембран при проникновении вируса в клетку [1], способствует протеолитическому нарезанию гемагглютини-на на две субъединицы [2] и отчасти определяет степень вирулентности и тканевый тропизм [3], хотя молекулярные механизмы этих явлений пока неясны. Современная классификация различает 9 антигенных подтипов нейраминидазы, из которых только N1 и N2 обнаружены у вирусов человека и детально исследованы. Расшифрованы также структуры нейраминидаз подтипов N7 и N8 вирусов гриппа лошадей [4] и подтипа N9 вирусов птиц [5]. В настоящей работе впервые установлена полная первичная структура гена нейраминидазы антигенного подтипа N7 вируса гриппа птиц A/FPV штамма Weybridge (H7N7). Он широко применяется в лабораторной практике как удобная модель для изучения генетики вирусов гриппа, и сведения о структуре его генов представляют интерес как основа для понимания молекулярных механизмов функционирования генома этих вирусов и природы изменений в мутантных генах.

Подробные методики получения ДНК-копий, клонирования и идентификации клонов приведены в нашей предыдущей работе [6]. Последовательность нуклеотидов определяли по методу Максама — Гилберта [7] в двух независимых клонах кДНК, содержащих полноразмерные копии гена нейраминидазы. Первичная структура позитивной цепи гена изображена на рисунке. Более 75% ее установлено по двум цепям кДНК и более 40% по двум клонам, причем не найдено ни одного межклонального различия.

В настоящее время опубликованы фрагменты первичной структуры нескольких генов нейраминидаз всех 9 антигенных подтипов, кодирующие ~100 N-концевых аминокислотных остатков, в том числе и одного из вирусов гриппа птиц подтипа N7 [8]. Сравнение их с нашими результатами показало, что наибольшая степень гомологии аминокислотной последо-

Последовательность нуклеотидов позитивной цепи ДНК-копии гена нейраминидазы вируса гриппа A/FPV штамма Weybridge (H7N7) и соответствующая ей первичная структура белка. Выше изображены различающиеся аминокислотные остатки в структуре нейраминидазы подтипа N7 вируса лошади [4]. Тире означает делецию остатка. Гомология аминокислотных последовательностей нейраминидаз этих двух вирусов составляет 83%, а в области ножки — всего 65% (остатки 7—90)

M N P N Q K L F A L A G V S I
 AGCAAAGCAGGGTGATTGAGAATGAATCCTAATCAAAAACCTATTGCATTATCAGGAGT 60
 V G I I M S I
 A I A L S V L N L I G I S N V G L N V
 GGCAATAGCACTTAGTGTATTGAACCTATTGATAGGAATTTCAAATGTTGGACTGAATGT 120
 Y S - S H N N
 S L H L K G E G V K Q E N N L T C T I
 GTCTTACACTTAAAAGGAGAGGGGTCAAACAAGAGAACAATTTGACGTGCACAACCAT 180
 N D M - I A D
 T Q N N T T V V E N T Y V N N T T I I N
 TACCAAAAACAACACTCTGTAGTGGAAAACACATACGTCAATAACACAACAATAATCAA 240
 S K I E N G N
 K G T N L K A P N Y L L L N K S L C S V
 CAAGGGGACAAATTTGAAGGCTCCAACTATTGCTGCTGAATAAAAGTCTATGCAGTGT 300

 E G W V V I A K D N A I R F G E S E Q I
 GGAAGGATGGGTGCTGATAGCCAAAGACAATGCAATAAGATTCCGGAGAAAGTGAACAAAT 360
 L S
 I V T R E P Y V S C D P S G C K M Y A L
 CATCGTTACTAGGGAGCCATATGTGTATGCGATCCATCAGGATGCAAGATGTATGCCCT 420
 S T
 H Q G T T I R N K H S N G T I H D R T T
 ACACCAAGGAACTACCATAAGGAACAACACTCAAATGGAACCATACATGACAGAACGAC 480
 S E
 F R G L I S T P L G T P P T V S N S D F
 TTTCCGTGGTCTCATATCCACCCCATTTGGGCACCCACCGACAGTGAGTAACAGTGATT 540
 N
 I C V G W S S T S C H D G V G R M T I C
 CATATGTGTGGGTGGTTCGAGTACAAGCTGCCATGACGGAGTTGGTAGAATGACTATCTG 600
 V D E K
 I Q G N N D N A T A T V Y Y N R R L T T
 CATAAGGGGAATAATGACAAATGCTACAGCGAGGTGTATTACAACAGGAGACTTACTAC 660
 H
 T I K T W A K N I L R T Q E S E C V C Y
 TACTATTA AAAA CTGGGCCAAGAATATTCTGAGGACTCAGGAGTCAGAGTGCGGTATGCTA 720
 S V N N F
 N G T C A V V M T D G P A S S Q A Y T K
 CAACGGCACATGTGCAGTTGTAATGACTGATGGGCCCGCTAGCAGCCAAAGCCTATACAAA 780
 V I M S K K
 I M Y F H K G L I I K E E P L R G S A R
 AATAATGTACTTTTCATAAAGGGCTAATAATAAAGGAAGCAACACTCAGGGGATCAGCCAG 840
 N R T
 H I E E C S C Y G H D Q K V S C V C R D
 GCATATTGAGGAATGCTCTTGTATTGACACGATCAGAAAGTAAGTTGTGTATGCAGGGA 900
 N K
 N W Q G A N R P I I E I D M S T L E H T
 TAACTGGCAAGGCGCAAATAGACCCATTATAGAGATTGATATGAGCACACTAGAGCACAC 960
 I K T I
 S R Y V C T G V L T D T S R P G D K P N
 AAGTAGATGCGTGTGCACTGGAGTTCTAACAGATACCAGTAGACCTGGGGACAAAACCTAA 1020
 E F I
 G D C S N P I T G S P G A P G V K G F G
 TGGTGTATTCCAATCCAATAACTGGAAGTCTGCTGACCCGGGAGTGAAAGGGTTCCG 1080

 E L
 F L N G D N T W L G R T I S P R S R S G
 GTTCTTAAATGGGGACAACACATGGCTAGGGAGGACTATCAGTCCCAGATCTAGGAGTGG 1140

 G E K K
 F E M L K I P N A E T D P N S R I I E R
 GTTCGAGATGCTGAAAATACCCAATGCAGAAACCGACCCAAATTTCTAGAATAATAGAGCG 1200

 S D Y
 Q E I V D N S N W S G Y S G S F I D C W
 GCAGGAGATCGTCGACAACAGTAACTGGTCAGGTTATTCTGGAAGTTCATCGACTGTTG 1260

 N D N S
 D E A N E C Y N P C F Y V E L I R G R P
 GGATGAGGCTAATGAATGTTACAACCCCTGCTTTTATGTAGAGTTAATTAGAGGGAGGCC 1320
 E
 E E A K Y V W W T S N S L I A L C G S P
 TGAGGAGGCAAAATACGTCTGGTGGACGAGCAACAGTCTAATTGCCTTGTGTGGAAGCCC 1380

 I K
 V S V G S G S F P D G A Q I Q Y F S
 AGTCTCAGTTGGGTCCGGTTCCTTCCCGATGGGGCTCAGATCCAATACTTTTCGTA AAA 1440

 TGCAAAAACGCCCTTGTCTACT 1464

вательности в данном участке (90%) наблюдается с нейраминидазы именно этого вируса. В то же время в аналогичной области нейраминидазы вируса лошадей [4] того же антигенного подтипа гомология составляет всего 71% (в остальной части молекулы 87%, см. рисунок). Вероятно, это свидетельствует о существовании достаточно обособленных видоспецифичных подклассов внутри одного и того же антигенного подтипа нейраминидаз. Тем не менее известно, что такое разграничение не является абсолютным. В частности, относительно недавняя эпидемия гриппа среди морских млекопитающих была вызвана вирусом, во всех отношениях сходным с вирусами гриппа птиц подтипа H7N7 [9].

ЛИТЕРАТУРА

1. Huang R., Rott R., Wahn K., Klenk H.-D., Kohama T. // *Virology*. 1980. V. 107. № 2. P. 313—319.
2. Nakajima S., Sugiura A. // *Virology*. 1980. V. 101. № 2. P. 450—457.
3. Ogawa T., Ueda M. // *Virology*. 1981. V. 113. № 1. P. 304—313.
4. Air G. M., Laver W. G. // *Advances in virus research*/Ed. Maramorsch K. Acad. Press, 1986. V. 31. P. 53—102.
5. Air G. M., Ritchie L. R., Laver W. G., Colman P. M. // *Virology*. 1985. V. 145. № 1. P. 117—122.
6. Беклемишев А. Б., Блинов В. М., Василенко С. К., Головин С. Я., Гуторов В. В., Каргинов В. А., Мамаев Л. В., Микрюков Н. Н., Петесов С. В., Петренко В. А., Петров Н. А., Сандахчиев Л. С. // *Биоорг. химия*. 1984. Т. 10. № 11. С. 1535—1543.
7. Maxam A. M., Gilbert W. G. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1977. V. 74. № 2. P. 560—564.
8. Blok J. // *Genetic variation among influenza viruses*/Ed. Nayak P. Acad. Press, 1981. P. 45—54.
9. Naeve C. W., Webster R. G. // *Virology*. 1983. V. 129. № 2. P. 298—308.

Поступило в редакцию
21.VIII.1987

NUCLEOTIDE SEQUENCE OF THE FULL-LENGTH DNA COPY OF THE AVIAN INFLUENZA A VIRUS NEURAMINIDASE GENE BELONGING TO N7 ANTIGENIC SUBTYPE

GRINEV A. A., PETROV N. A., GOLOVIN S. Ya., MAMAEV L. V.,
MIKRIUKOVA T. P., NETESOV S. V., VASILENKO S. K.

*All-Union Research Institute of Molecular Biology,
Koltzovo, Novosibirsk Region*

Complete nucleotide sequence of the cloned full-length DNA copy of the influenza virus A/FPV Weybridge (H7N7) neuraminidase gene has been determined.