



# БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Том 20 \* № 5 \* 1994

## ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 577.112.5:578.841

© 1994 Э. А. Козлов, Н. В. Роднин, Л. И. Пальчиковская,  
Т. Л. Левитина, М. Т. Бобровская, Н. Ф. Радомский

### ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА ПОЛИЭДРИНА ВИРУСА ЯДЕРНОГО ПОЛИЭДРОЗА КОЛЬЧАТОГО ШЕЛКОПРЯДА

*Malacosoma neustria*

Институт молекулярной биологии и генетики АН Украины, Киев

Интерес к изучению полиэдрина вируса ядерного полиэдроза (ВЯП) обусловлен двумя аспектами применения бакуловирусов — их способностью селективно контролировать численность популяций насекомых (экологически чистые инсектициды) и широко распространенным использованием бакуловирусов в качестве экспрессирующих векторов (биотехнология). В обоих аспектах утилитарные свойства инсектицидов и векторов зависят напрямую от особенностей структуры и биосинтеза полиэдрина индивидуальных ВЯП.

В Институте молекулярной биологии и генетики АН Украины параллельно с изучением свойств и структуры полиэдрина ВЯП *Malacosoma neustria* ведутся

Met-Tyr-Thr-Arg-Tyr-Ser-Tyr-Asn-Pro-Thr-Leu-Gly-Arg-Thr-Tyr-Val-Tyr-	10
20	30
Asp-Asn-Lys-Tyr-Tyr-Lys-Asn-Leu-Gly-His-Val-Ile-Lys-Asn-Ala-Lys-Arg-	40
40	50
Lys-Lys-Asn-Ala-Ala-Glu-His-Glu-Leu-Glu-Arg-Asn-Leu-Asp-Pro-Leu-	60
Asp-Lys-Tyr-Leu-Val-Ala-Glu-Asp-Pro-Phe-Leu-Gly-Pro-Gly-Lys-Asn-Gln-	70
70	80
Lys-Leu-Thr-Leu-Phe-Lys-Glu-Ile-Arg-Asn-Val-Lys-Pro-Asp-Thr-Met-Lys-	90
90	100
Leu-Ile-Val-Asn-Trp-Ser-Gly-Lys-Glu-Phe-Leu-Arg-Glu-Thr-Trp-Thr-Arg-	110
110	
Phe-Met-Glu-Asp-Ser-Phe-Pro-Ile-Val-Asn-Asp-Gln-Glu-Val-Met-Asp-Val-	120
120	130
Leu-Leu-Val-Leu-Gln-Ile-Arg-Pro-Thr-Lys-Pro-Asn-Arg-Cys-Phe-Arg-Phe-	140
140	150
Leu-Ala-Gln-His-Ala-Leu-Arg-Gys-Asp-Ser-Asp-Tyr-Val-Pro-His-Glu-Val-	160
160	170
Ile-Arg-Ile-Val-Glu-Pro-Ser-Tyr-Val-Gly-Ser-Asn-Asn-Glu-Tyr-Arg-Ile-	180
Ser-leu-Gly-Lys-Arg-Gly-Tyr-Ala-Cys-Pro-Val-Met-Asn-Leu-His-Ser-Glu-	190
190	200
Tyr-Thr-Asn-Ser-Phe-Glu-Asp-Phe-Ile-Asn-Arg-Val-Ile-Trp-Glu-Asn-Phe-	210
210	220
Tyr-Lys-Pro-Leu-Leu-Tyr-Ile-Gly-Thr-Asp-Ser-Ala-Glu-Glu-Glu-Ile-	230
Leu-Leu-Glu-Val-Ser-Leu-Val-Phe-Lys-Ile-Lys-Glu-Phe-Ala-Pro-Asp-Ala-	240
Pro-Leu-Tyr-Thr-Gly-Pro-Ala-Tyr	

Рис. 1. Полная аминокислотная последовательность полиэдрина ВЯП *M. neustria*

	10	20	30	40	50		
B.m.	PNYSYNEPTIGRTYVVDNKYYNLGGLIKNAKRKKHLIEHEKEEKQWDLLDNYMVA						
P.d.	MKNF.N.S.AL.K.....	TV...Q...Q...Q...I..RSL.H..R.L..					
G.m.	.....R.....	AV.....Q...I..NL.V....L..					
A.s.	MRNF.....F.....	SV.....Q...L....L.P..TF...					
M.b.	MYTR.....SL.....	SV....N...Y...L...TL.P..R.L..					
M.n.	MYTR.....L.....	HV.....NAA...L..RNL.P..K.L..					
	60	70	80	90	100	110	120
EDPFLGPKNQKLTLFKEVRNVKPDTMKLIVNWSGKEFLRETWTRFVEDSFPIVNDQEVMDDVY	.....Y.....	I.....	V.....	M.....	I.....		
.....I.....	.....I.....	V...K...Y.....M.....		F			
.....V.....	.....I.....	V.....M.....	IF				
.....I.....	.....V.....	M.....I...F					
.....I.....	.....V.....	M.....L					
	130	140	150	160	170	180	
LVANLKPTRPNRCYKFLAQHALRWDEDYVPHEVIRIMEPSYVGMMNEYRISLAKGGGCPIMN	TI.VR.....	V.....G.....V.T...NQP.....R.....R.					
.....P.....	.....P.....	D...V...W...S.....					
E.....R.....	C.P.....	V...D...VG.....R.....					
..I.MR.....F.....	C.P.....	V...S...V...R.....V.....					
..LQIR..K...FR.....	C.S.....	V...S.....G.R.YA..V..					
	190	200	210	220	230	240	
IHSEYTNFSFVNRFVIWENFYKPIVYIGTDASEEEEILIEVSLVFKIKEFAPDAPLFTGPAY	L...A..T...H.L.S...D.....	V...T.....L.....					
LN.....Q.ID.....	.....T.....LIL.....V.....						
LN...N.....IE.....	RNN.....SA.....L.L..L..V.....I..YS....						
L.....E.I.....	V...SA.....L.....						
L.....D.I.....	LL...SA.....L.....						

Рис. 2. Сравнение аминокислотных последовательностей полиэдринов ВЯП *Portheria dispar* (P. d.), *Galleria mellonella* (G. m.), *Agrotis segetum* (A. s.), *Mamestra brassicae* (M. b.) и *M. neustria* (M. n.) с аминокислотной последовательностью полиэдрина ВЯП *Bombyx mori* (B. m.) [4, 5]. В последовательностях полиэдринов ВЯП P. d., G. m., A. s., M. b., M. n. точками обозначены аминокислотные остатки, идентичные остаткам в последовательности полиэдрина ВЯП B. m.

работы по конструированию экспрессирующего вектора на базе этого вируса. При проведении этой работы был частично секвенирован ген полиэдрина и из его нуклеотидной последовательности была выведена аминокислотная последовательность 47 остатков аминокислот с N-конца [1].

Первичная структура полиэдрина ВЯП *M. neustria* была определена нами методами белковой химии. Белок восстанавливали, карбоксиметилировали и расщепляли трипсином [2]. Пептиды разделяли гель-фильтрацией, высоковольтным электрофорезом (ЭФ) и хроматографией на бумаге, как описано для других полиэдринов [2]. Крупные триптические пептиды, содержащие более 10 остатков аминокислот, расщепляли химотрипсином и термолизином [2] и полученные пептиды разделяли ЭФ и БХ. Секвенирование осуществляли ручным методом Эдмана в сочетании с дансилированием [3]. Полипептидную цепь полиэдрина *M. neustria* (рис. 1) реконструировали путем сравнения полученных пептидов с аминокислотными последовательностями полиэдринов других ВЯП, установленными в нашей лаборатории [4, 5] (рис. 2).

В положениях 37, 40 и 43 (рис. 1) имеются расхождения с аминокислотной последовательностью, выведенной из нуклеотидной последовательности гена полиэдрина [1]; в этих местах расположены остатки Asn, Glu и Leu вместо Ala, Gly и His соответственно. Мы рассчитали «степень родства» (% идентичных + гомологичных остатков аминокислот [6]) для группы полиэдринов. Это последовательности, приведенные на рис. 2, а также последовательности, выведенные по структуре соответствующих генов полиэдринов из ВЯП *Autographa californica*, *Orgyia pseudotsugata* (2 штамма) [7] и *Panolis flammea* [8].

«Степень родства» полиэдрина ВЯП *M. neustria* с девятью другими колеблется в пределах 82—96%. «Степень родства» всех 10 полиэдринов между собой колеблется в пределах 75—100%. Очевидно, что группа полиэдринов относится к разряду высокогомологичных белков, у которых, по-видимому, важными для функционирования являются все участки полипептидной цепи, что согласуется с высказанной нами гипотезой о мультифункциональных свойствах полиэдрина ВЯП бакуловирусов [6]. Наиболее вариабелен N-концевой участок 1—53, в котором «степень родства» по группе колеблется в пределах 70—95%. Этому участку по гипотезе приписывается способность взаимодействовать с РНК, имеющейся в полиэдрах [6]. Он содержит консенсус-последовательность (12—23) для РНК-белковых взаимодействий [9], богатую остатками тирозина и основных аминокислот (7 из 13). Менее вариабельный участок 122—194 (со «степенью родства» 75—97%) содержит консенсус-последовательность (133—151), содержащую так называемый «Cys-His-box» [10]. Этому участку по гипотезе приписывается способность взаимодействовать с мембранами (возможно, вирионов, включенных в полиэдр). Консервативные участки 55—121 и 195—246, богатые остатками гидрофобных, кислых, их амидов и оксиаминокислот, имеют «степень родства» 94—100 и 87—100% соответственно. Им приписывается способность к белок-белковым взаимодействиям, ответственным за основную функцию — самоассоциацию полиэдрина в тела включения (полиэдры).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Строковская Л. И., Кихно И. М., Веселовский О. В., Скуратовская И. Н., Мирюта Н. Ю., Петренко А. И., Соломко А. П.//Биополимеры и клетка. 1990. Т. 6. № 3. С. 84—89.
- Козлов Э. А., Левитина Т. Л., Кацман М. С., Гусак Н. М., Овандер М. Н., Серебряный С. Б.//Биоорган. химия. 1978. Т. 4. № 8. С. 1036—1047.
- Гусак Н. М., Овандер М. Н., Дробот Л. Б., Серебряный С. Б.//Киев: Наук. думка, 1979. С. 142—154.
- Козлов Э. А., Левитина Т. Л., Гусак Н. М., Роднин Н. В., Атепалихина С. А., Пальчиковская Л. И.//Биополимеры и клетка. 1991. Т. 7. № 1. С. 75—82.
- Пальчиковская Л. И., Левитина Т. Л., Бобровская М. Т., Овандер М. Н., Кацман М. С., Козлов Э. А.//Биополимеры и клетка. 1993. Т. 9. № 4. С. 44—49.
- Kozlov E. A., Levitina T. L., Gusak N. M.//Curr. Top. Microbiol. and Immunol. 1986. V. 131. P. 135—164.
- Rohrmann G. F.//J. Gen. Virol. 1986. V. 67. № 8. P. 1499—1513.
- Cameron J. R., Possee R. D.//Virus Res. 1989. V. 12. № 3. P. 183—200.
- Wickens M. P., Dahlberg J. E.//Cell. 1987. V. 51. № 3. P. 339—342.
- Vallee B. L., Auld D. S.//Biochemistry. 1990. V. 29. № 24. P. 5647—5659.

Поступило в редакцию  
13.XII.1993

*E. A. Kozlov, N. V. Rodnin, L. I. Palčikovskaya, T. L. Levitina,  
M. T. Bobrovskaya, N. P. Radomskij*

#### THE PRIMARY STRUCTURE OF THE *Malacosoma neustria* NUCLEAR POLYHEDROSIS VIRUS (NPV) POLYHEDRIN

*Institute of Molecular Biology and Genetics,  
Academy of Sciences of Ukraine, Kiev*

The primary structure of the *M. neustria* NPV polyhedrin has been deduced on the basis of data on its tryptic peptides and comparison with known amino acid sequences of the *Bombyx mori*, *Perthetria dispar*, *Galleria mellonella*, *Agrotis segetum* and *Mamestra brassicae* NPV polyhedrins.