



УДК 547.963.3:576.858.43

## ПЕРВИЧНАЯ СТРУКТУРА ГЕНА РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ ВИРУСА ЯЩУРА A<sub>22</sub>

Кузьмин И. В., Рыбáков С. С., Иванющенко В. Н.,  
Бурдов А. Н.

Всесоюзный научно-исследовательский ящурный институт,  
Госагропром, г. Владимир

Геном вируса ящера представлен одноцепочечной РНК длиной около 8500 нуклеотидов. На вирионной РНК синтезируется полипротеин, который в дальнейшем расщепляется протеазами с образованием структурных и неструктурных белков [1]. РНК-полимераза вируса ящера кодируется 3'-концевой областью РНК [2]. К настоящему времени опубликованы нуклеотидные последовательности генов РНК-полимеразы вируса ящера A<sub>12</sub> [2], A<sub>10</sub> [3], O<sub>1</sub> [4], C<sub>1</sub> [4]. Ген РНК-полимеразы в высокой степени консервативен, хотя имеются как межтиповые, так и внутритиповые отличия, молекулярные основы возникновения которых пока неизвестны.

Настоящая работа посвящена определению первичной структуры гена РНК-полимеразы вируса ящера A<sub>22</sub>. Клон к23-19, содержащий вставку кДНК (500 п.о.) РНК-полимеразы вируса ящера A<sub>22</sub> в векторе рUC19, был получен нами ранее с использованием в качестве вектора плазмиды рBR322 и дальнейшего переклонирования вставки в плазмиду рUC19 [5]. Позднее были получены два других клона — к110 и к94 коннекторным способом в плазмиде рBR322. Для трансформации использован штамм *E. coli* RR1. Размеры вставок у клонов к110 и к94 составили ~1500 и 2300 п.о. соответственно.

Определение нуклеотидной последовательности клонированных фрагментов проводили как описано в работе [6] с использованием 3'-концевой <sup>32</sup>P-метки [7, 8]. Стратегия секвенирования показана на рис. 1. Около 80% последовательности было определено по двум или трем клонам и более 70% по двум цепям. Локализацию участка, соответствующего гену РНК-полимеразы, проводили путем расчета степени гомологии полученной последовательности к ДНК с опубликованными первичными структурами гена. На рис. 2 приведены нуклеотидная и кодируемая ею аминокислотная последовательности ДНК-полимеразы вируса ящера A<sub>22</sub>. Гомология нуклеотидной последовательности с аналогичными участками

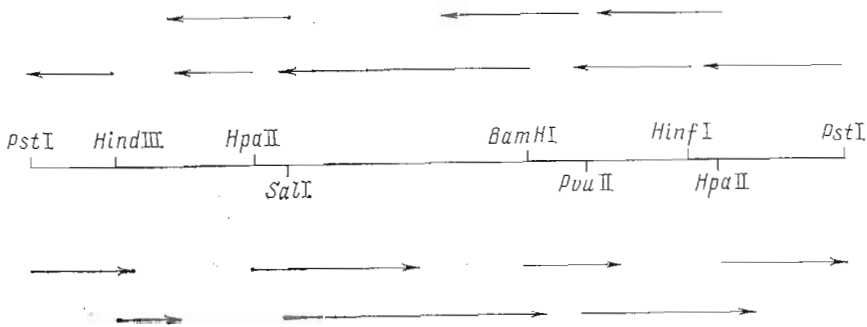


Рис. 1. Стратегия секвенирования кДНК гена РНК-полимеразы вируса ящера A<sub>22</sub>. Указаны сайты рестрикции и направление секвенирования по кодирующей (внизу) и комплементарной (вверху) цепям

1 GGG TTG ATC GTT GAC ACT AGA GAT GTT GAA GAG CGC GTG CAT GTC  
 Gly Leu Ile Val Asp Thr Arg Asp Val Glu Glu Arg Val His Val

46 ATG CGC AAA ACC AAG CTT GCA CCC ACC GTG GCT CAC GGT GTG TTT  
 Met Arg Lys Thr Lys Leu Ala Pro Thr Val Ala His Gly Val Phe

91 AAT CCT GAA TTT GGT CCC GCC GCT TTG TTC AAC AAG GAC CCG CGG  
 Asn Pro Glu Phe Gly Pro Ala Ala Leu Phe Asn Lys Asp Pro Arg

136 CTG AAT GAA GGT GTT GTC CTC GAT GAA GTC ATT TTC TCC AAG CAC  
 Leu Asn Glu Gly Val Val Leu Asp Glu Val Ile Phe Ser Lys His

181 AAA GGA GAC ACG AAA ATG ACC GCA GAG GAC AAA GCG CTG TTC CGC  
 Lys Gly Asp Thr Lys Met Thr Ala Glu Asp Lys Ala Leu Phe Arg

226 GCC TGT GCT GCC GAC TAC GCG TCC CGC TTG CAC AAC GTG TTG GGT  
 Ala Cys Ala Ala Asp Tyr Ala Ser Arg Leu His Asn Val Leu Gly

271 ACC GCA AAT GCC CCA CTG AGC ATC TAC GAG GCA ATC AAA GGC ATC  
 Thr Ala Asn Ala Pro Leu Ser Ile Tyr Glu Ala Ile Lys Gly Ile

316 GAC GGC CTC GAC GCC ATG GAA CCA GAC ACT GCG CCT GGC CTC CCC  
 Asp Gly Leu Asp Ala Met Glu Pro Asp Thr Ala Pro Gly Leu Pro

361 TGG GCC CTC CAA GGG CAG CGC CGC GGC GCG TTG ATT GAC TTC GAG  
 Trp Ala Leu Gln Gly Gln Arg Arg Gly Ala Leu Ile Asp Phe Glu

406 AAC GGC ACG GTC GGG CCC GAA GTC GCG TCT GCC TTA GAG CTC ATG  
 Asn Gly Thr Val Gly Pro Glu Val Ala Ser Ala Leu Glu Leu Met

451 GAG AAA AGA CAA TAC AAA TTT ACC TGT CAG ACC TTC CTG AAG GAC  
 Glu Lys Arg Gln Tyr Lys Phe Thr Cys Gln Thr Phe Leu Lys Asp

496 GAA GTT CGC CCG ATG GAG AAA GTA CGT GCC GGC AAG ACT CGC ATT  
 Glu Val Arg Pro Met Glu Lys Val Arg Ala Gly Lys Thr Arg Ile

541 GTC GAC GTT TGG CCT GTT GAA CAT ATT CTT TAC AAC AGG ATG ATG  
 Val Asp Val Leu Pro Val Glu His Ile Leu Tyr Asn Arg Met Met

586 ATT GCC AGA TTC TGT GCT CAG ATG CAC TCA AAC AAC GGA CCG CAA  
 Ile Gly Arg Phe Cys Ala Gln Met His Ser Asn Asn Gly Pro Gln

631 ATT GCC TCA GCG GTT GGT TGT AAT CCA GAT GTT GAT TGG CAG AGA  
 Ile Gly Ser Ala Val Gly Cys Asn Pro Asp Val Asp Trp Gln Arg

676 TTT GGC ACC CAT TTT GCT CAG TAC AAA AAC GTG TGG GAT GTG CAC  
 Phe Gly Thr His Phe Ala Gln Tyr Lys Asn Val Trp Asp Val Asp

721 TAT TCG GCC TTT GAT GCC AAC CAT TGC AGT GAC GCA ATG AAC ATC  
 Tyr Ser Ala Phe Asp Ala Asn His Cys Ser Asp Ala Met Asp Ile

766 ATG TTT GAG GAA GTG TTC CGC ACG GAA TTT GGT TTC CAC CCA AAT  
 Met Phe Glu Glu Val Phe Arg Thr Glu Phe Gly Phe His Pro Asn

811 GCT GAG TGG ATC CTG AAG ACT CTC GTG AAC ACG GAA CAC GCC TAT  
 Ala Glu Trp Ile Leu Lys Thr Leu Val Asn Thr Glu His Ala Tyr

856 GAG AAC AAG CGC ATC ACT GTT GAG GGC GGG ATG CCG TCT GGT TGT  
 Glu Asn Lys Arg Ile Thr Val Glu Gly Gly Met Pro Ser Gly Cys

901 TCC GCG ACA AGC ATC ATC AAC ACA ATT TTG AAC AAC ATC TAC GTG  
 Ser Ala Thr Ser Ile Ile Asn Thr Ile Leu Asn Asn Ile Tyr Val

946 CTC TAC GCC TTG CGT AGA CAC TAT GAG GGA GTT GAG CTG GAC ACC  
 Leu Tyr Ala Leu Arg Arg His Tyr Glu Gly Val Glu Leu Asp Thr

991 TAC ACC ATG ATC TCC TAC GGA GAC GAC ATA GTG GTG GCA AGT GAT  
 Tyr Thr Met Ile Ser Tyr Gly Asp Asp Ile Val Val Ala Ser Asp

1036 TAC GAC TTG GAT TTT GAG GCT CTT AAG CCG CAC TTT AAA TCT CTT  
 Tyr Asp Leu Asp Phe Glu Ala Leu Lys Pro His Phe Lys Ser Leu

1081 GGT CAA ACC ATC ACC CCA GCT GAC AAA AGC GAC AAA GGT TTT GTT  
 Gly Gln Thr Ile Thr Pro Ala Asp Lys Ser Asp Lys Gly Phe Val

1126 CTT GGT CAA TCC ATT ACT GAT CTC ACT TTC CTC AAA AGA CAC TTC  
 Leu Gly Gln Ser Ile Thr Asp Val Thr Phe Leu Lys Arg His Thr

1171 CGC AFG GAC TAT GGA ACT GGG TTT TAC AAA CCT GTG ATG GCT TCG  
Arg Met Asp Tyr Gly Thr Gly Phe Tyr Lys Pro Val Met Ala Ser

1216 AAG ACC CTC GAG GCC ATC CTC TCC TTT GCA GGC CGT GGG ACC ATA  
 Lys Thr Leu Glu Ala Ile Leu Ser Phe Ala Gly Arg Gly Thr Ile

1261 CAG GAG AAG TTG ATC TCC GTG GCA GGA CTC GCA GTC CAC TCT GGA  
 Gln Glu Lys Leu Ile Ser Val Ala Gly Leu Ala Val His Ser Gly

1306 CCT GAC GAG TAC CGG CGT CTC TTT GAG CCC TTT CAG GGC CTC TTT  
 Pro Asp Glu Tyr Arg Arg Leu Phe Glu Pro Phe Gln Gly Leu Phe

1351 GAG ATT CCG AGC TAC AGA TCA CTT TAC CTG CGT TGG GTG AAC GCC  
 Glu Ile Pro Ser Tyr Arg Ser Leu Tyr Leu Arg Trp Val Asn Ala

1396 GTG TGC GGT GAC GCA  
 Val Cys Gly Asp Ala

Рис. 2. Нуклеотидная последовательность к ДНК гена РНК-полимеразы вируса ящера А<sub>22</sub> и кодируемая ею аминокислотная последовательность. Подчеркнуты аминокислоты, отличающиеся от других подтипов вируса ящера типа А

РНК вируса ящура A<sub>12</sub>, A<sub>10</sub>, O<sub>1</sub> и C<sub>1</sub> составила 90–92%. В аминокислотной последовательности РНК-полимеразы у вируса ящура A<sub>22</sub> выявлено около 4% отличий от последовательностей аминокислот этого фермента других подтипов вируса ящура типа А. Замены обнаружены в основном в области, прилежащей к N-концу молекулы (подчеркнуты на рис. 2).

Полученные вставки кДНК были использованы для выявления вируса ящура методом молекулярной гибридизации.

Авторы приносят благодарность сотрудникам ИБФМ АН СССР А. М. Мельникову и И. И. Фодору за проявленный интерес к работе и ее поддержку.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Martinez-Salas E., Ortin I., Domingo E.* // *Gene*. 1985. V. 35. № 1/2. P. 55–61.
2. *Robertson B., Morgan D., Moore D., Grubman M., Card I., Fischer T., Weddel G., Dowbenko D., Yansura D.* // *Virology*. 1983. V. 126. № 2. P. 614–623.
3. *Carroll A. R., Rowlands D. I., Clark B. E.* // *Nucl. Acids Res.* 1984. V. 12. № 5. P. 2466–2472.
4. *Forss S., Strebel K., Beck E., Schaller H.* // *Nucl. Acids Res.* 1984. V. 12. № 166. P. 6587–6604.
5. Кузьмин И. В., Рыбаков С. С., Иванющенко В. Н., Быкова Л. А., Первозчикова Н. А., Фалина Г. М., Михалусев В. И., Дрыгин В. В., Бодин Б. Я., Гневашев В. М. // Материалы 2-го симпозиума специалистов стран-членов СЭВ по проблеме «Профилактика и эффективная борьба с ящуром, а также создание высокоэффективных противоящурных вакцин». София, 21–31 мая, 1987 г.
6. Чуупило С. А., Кравченко В. В. // *Биоорг. химия*. 1983. Т. 9. № 12. С. 1634–1637.
7. *Maniatis T., Fritsch E., Sambrook J.* Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. С. 125–126.
8. *Tu C.-P., Cohen S. N.* // *Gene*. 1980. V. 10. № 2. P. 177.

Поступило в редакцию  
23.VIII.1988

#### NUCLEOTIDE SEQUENCE OF THE FMDV A<sub>22</sub> RNA POLYMERASE GENE

KUZMIN I. V., RYBAKOV S. S., IVANYUSHCHENKOV V. N., BURDOV A. N.

*All-Union Research Institute of Foot-and-Mouth Disease Virus,  
Gosagroprom, Vladimir*

Complete nucleotide sequence of gene RNA polymerase for the foot-and-mouth disease virus subtype A<sub>22</sub> has been determined.