

## 白點症病毒 wssv524 基因之選殖與核苷酸序列分析

李政峰、李榮彬、吳念澤、田乃月\*

嘉南藥理大學，生物科技系

白點症病毒 (White spot syndrome virus, WSSV) 為新興的大型雙股 DNA 病毒，外觀具套膜呈長橢圓狀，一側有長尾狀構造，主要感染的寄主範圍遍及水產與無脊椎甲殼類動物。由白點症病毒的基因體與蛋白質體分析結果發現與已知的 DNA 病毒種類差異極大，故國際病毒分類委員會將此病毒分類成立新病毒科屬：*Nimaviridae*；*Whispovirus*。

由先前實驗研究發現白點症病毒蛋白質 WSSV071 可能會與草蝦體內蛋白質血藍素及轉麩醯胺酸酶 (TGase) 的部份胜肽序列產生交互作用，另也發現 WSSV071 會與另一個病毒蛋白質 WSSV524 之部分胜肽序列產生作用，故本研究重點在於選殖出 wssv524 基因的完整核苷酸序列，以利未來採用酵母菌雙雜交技術 (Y2H) 探討 WSSV071 與 WSSV524 兩個蛋白質的實質作用關係。研究首先利用聚合酶連鎖反應 (PCR) 擴增出 wssv524 基因完整序列 (3732 bp)，經純化構築至 TA 載體 (RBC) 形成重組質體 pTA-WSSV524，再轉型入大腸桿菌 (DH5 $\alpha$ ) 進行選殖。選殖出的 wssv524 基因序列經核苷酸定序後，與 NCBI 基因庫所收錄的 wssv524 基因片段 (編號：AF440570.1:303303..307034) 進行序列比對。

NCBI 基因庫所收錄的 wssv524 基因片段 (編號：AF440570.1:303303..307034) 全長為 3732 bp，推衍可合成 1243 個胺基酸序列。本研究將所選殖之 wssv524 基因序列與之比對，發現有 3 處歧異：(1) 原始序列在第 762 個核苷酸位點是胸腺嘧啶 (Thymine, T)，而本研究序列則是胞嘧啶 (Cytosine, C)；(2) 在第 921 個核苷酸是鳥糞嘌呤 (Guanine, G)，本研究則是胸腺嘧啶 (Thymine, T)；(3) 在原始序列之第 848 與 849 核苷酸之間，本結果多出 6 個核苷酸 (GACAGA)，故本研究之 wssv524 基因全長增為 3738 bp。

針對上述 3 項核苷酸差異，利用 EMBOSS 系統將核苷酸序列轉譯成胺基酸序列後再次比對發現：(1) WSSV524 胜肽鏈上第 254 號胺基酸原始為絲氨酸 (Serine, S)，本研究為絲氨酸 (Serine, S)；(2) 第 307 號胺基酸原為離胺酸 (Lysine, K)，本研究則是天冬醯胺 (Asparagine, N)；(3) 本研究定序所多出之 6 個核苷酸轉譯出天門冬胺酸 (Aspartic acid, D) 與精氨酸 (Arginine, R)，位置增添於原始多胜肽的第 283 與 284 號胺基酸之間。

目前本研究以 PCR 擴增所得之 wssv524 基因序列有 3 處核苷酸產生歧異，但尚需反覆分析，若確認變異屬實，將續以酵母菌雙雜交技術探討 WSSV524 與 WSSV071 之蛋白質交互作用關係，並期有助於了解兩種蛋白質在白點症病毒的繁衍機制中所扮演之角色。

關鍵字：白點症病毒、wssv071、wssv524，聚合酶連鎖反應、基因選殖。