

一个马铃薯 X 病毒分离物的外壳蛋白 基因序列分析与株系鉴定

曲 静 朱常香 温孚江* 郭兴启 宋云枝

(山东农业大学生命科学院,泰安 271018)

摘要:对山东省侵染马铃薯的一个马铃薯 X 病毒(PVX)分离物 PVX-SD₁ 的外壳蛋白(CP)基因进行了克隆和序列分析。以提纯的病毒 RNA 为模板,应用 RT-PCR 扩增目的基因,通过常规的基因克隆法将扩增的 CP 基因导入 pUC19 载体,测序。结果表明,PVX-SD₁ 的 CP 基因长 719bp,可编码 248 个氨基酸;与 GenBank 中报道的 15 个有代表性的株系或分离物相比较,核苷酸同源性在 80.1%~99.7%,氨基酸同源性在 89.8%~100%;与欧洲株系 UK₃ 仅 1 个核苷酸不同,同源性为 99.7%,氨基酸同源性达 100%,表明它们可能为同一株系,属于 X³ 组。

关键词: 马铃薯 X 病毒; 外壳蛋白基因; 株系鉴定

马铃薯 X 病毒(potato virus X, PVX)是马铃薯 X 病毒属(*Potexvirus*)的典型成员,广泛分布于全世界马铃薯种植区。株系鉴定是病害流行病学研究和开展抗病育种研究的基础。关于 PVX 的株系划分缺乏统一的标准,目前主要有三种标准,即根据病毒分离物的血清学、钝化温度及与马铃薯上的抗病基因 Nx、Nb 的互作类型等^[1-5]。不同划分标准得到的结果不尽相同。为了简便和统一 PVX 的分类,Cockerham^[4-5]根据不同的株系侵染具有不同抗病基因(Nx 和 Nb)马铃薯所表现出的症状,将已报道的 PVX 株系分为 4 组,分别用 X¹、X²、X³ 和 X⁴ 表示。X¹ 组(如 CS₃₅ 株系)在含 Nx、Nb 基因的马铃薯上都引起过敏反应(HR),X² 组(如 CP 株系)只在含 Nb 基因的马铃薯上引起 HR,X³ 组(如 UK₃、DX 株系)只在含有 Nx 基因的马铃薯上引起 HR,X⁴ 组(如 DX₄、CP₄、HB 株系)则能完全克服 Nx、Nb 抗性基因。这一划分标准大大简化了 PVX 的分类,得到许多研究者的认同。

近年来,许多研究证明,PVX 的外壳蛋白(coat protein, CP)基因在决定 PVX 与植物抗病基因互作方面起重要作用。CP 可作为激发子使马铃薯产生 HR、ER(极端抗病性)反应,CP 基因核苷酸序列的变化(所编码氨基酸序列的变化)导致不同的寄主症状反应类

基金项目:国家自然科学基金(39970485)、山东省自然科学基金(22000D₀₂)

作者简介:曲静(1978-),女,硕士,从事分子植物病毒学研究(E-mail:qj52@163.net)

* 通讯作者(E-mail: fwen@sdau.edu.cn)

收稿日期:2002-10-21

型^[6-9]。因此, PVX 的 CP 基因序列的分析将有助于对 PVX 的分类研究。

笔者对 PVX 的一个山东分离物 PVX-SD₁ 的 CP 基因进行了克隆和序列分析,并讨论了该分离物与其它国家和地区分离物的关系及其在株系划分上的定位。

1 材料与方 法

1.1 材 料

质粒 pUC19、大肠杆菌 (*Escherichia coli*) DH5 α 为本实验室保存。禽成髓细胞瘤病毒 (AMV) 反转录酶、蛋白酶 K、TaqDNA 聚合酶、限制性内切酶、T₄ DNA 连接酶、dNTPs、RNase A 为大连宝生物公司产品。

1.2 PVX-SD₁ 的分离与鉴定

1.2.1 病毒的分离

从山东省泰安、莱芜等地市采集马铃薯皱缩花叶,经千日红 *Gomphrena globosa* 进行 3 次单斑分离,接种于心叶烟上扩繁,保存,命名为 PVX-SD₁。

1.2.2 病毒的提纯

病毒的提纯主要参考周雪平^[10]的方法,根据 Tomlinson^[11]将提纯缓冲液由磷酸缓冲液改为硼酸缓冲液。

1.2.3 病毒的鉴定

取少量病毒制品用悬滴法制铜网,1.5% 的磷钨酸负染, JEM-1200X 型透射电镜下观察病毒粒体形态。按常规方法处理病毒提纯液,采用 SDS-PAGE 不连续电泳法检测病毒外壳蛋白亚基的分子量,分离胶浓度为 12.5%,浓缩胶浓度为 10%。

1.3 PVX-SD₁ CP 基因的克隆和序列分析

1.3.1 引物设计

根据 NCBI 报道的 PVX CP 基因序列设计上游引物 P₁、下游引物 P₂。P₁ 为 5'-gcgctctagagaagaatgtcagcaccagct-3',引入 *Xba*I 酶识别序列, P₂ 为 5'-gcgcggtacacctatggtggtgtagagatgac-3',引入 *Kpn*I 酶识别序列。

1.3.2 病毒 RNA 的提取和 RT-PCR

病毒提取液用蛋白酶 K 消化后,加入 0.005mol/L EDTA, 0.5% SDS, 37℃ 水浴作用 2~4h,然后用等体积苯酚:氯仿:异戊醇(25:24:1),氯仿:异戊醇(24:1)各抽提 1 次,用 1/10 体积的 3mol/L NaAC 和 2 倍体积冷无水乙醇沉淀核酸, 15 000r/min 离心 15min, 70% 乙醇洗涤沉淀,干燥后用 TE 溶解。取 1 μ l 病毒 RNA 溶液,加入下游引物 P₂ 3 μ l (10pmol/ μ l), 无 RNA 酶的水 10 μ l, 混匀, 70℃ 水浴 10min, 迅速置冰上, 稍离心, 使溶液至管底。依次加入 2 μ l RNA 酶抑制剂 (20U/ μ l)、4 μ l dNTPs (10mmol/L) 和 6 μ l 5 \times 第一链合成缓冲液 (含 Mg²⁺、DIT), 42℃ 温育 3min, 然后加入 3 μ l AMV 反转录酶 (5U/ μ l), 并加灭菌水至总体积 30 μ l, 混匀, 4℃ 温浴 1h。然后 70℃, 温浴 10min, 使 AMV 失活。PCR 反应体系为: 取 5 μ l cDNA 产物作为模板, 加 2 μ l 引物 P₁ (10pmol/ μ l)、2 μ l 引物 P₂ (10pmol/ μ l)、5 μ l 10 \times PCR 缓冲液、5 μ l 10mmol/L dNTPs、4 μ l 25mmol/L MgCl₂、1 μ l TagDNA 聚合酶, 加入双蒸水至总体积为 50 μ l, 进行 PCR 扩增。扩增条件为 94℃ 预变性 5min, 然后 94℃ 变性 1min,

63℃退火 1min,72℃延伸 1.5min,30 次循环后,72℃延伸 10min。

1.3.3 CP 基因的克隆和重组子的鉴定

扩增产物和克隆载体 pUC19 经 *Kpn* I 和 *Xba* I 酶切后,经 T₄ DNA 连接酶连接,转化大肠杆菌 DH5 α ,涂布在含有 100 μ g/ml 氨苄青霉素的 LB 平板培养基上,37℃过夜培养,选择单菌落。用引物 P₁、P₂ 的 PCR 筛选后,扩大培养 PCR 阳性克隆。用碱裂解法大量提取质粒 DNA,双酶切鉴定。

1.3.4 CP 基因的序列分析

提供重组子质粒 3 个,由大连宝生物公司进行序列测定,重复 3 次。序列测定结果用 DNASIS、DNAClub、DNAMAN 软件进行分析。并与 GenBank 中 15 个不同国家和地区的有代表性的 CP 基因序列进行比较。

2 结果与分析

2.1 PVX-SD₁ 的分离与鉴定

采用 PEG 沉淀和超速离心相结合的方法提纯 PVX-SD₁。紫外吸收测试结果表明,病毒提取液具有典型的病毒光谱吸收曲线,在 258nm 处有吸收高峰,在 245nm 处有吸收低峰,OD₂₆₀/OD₂₈₀ 光谱吸收值为 1.245。提纯病毒产量为 230mg/1000g 新鲜病叶。电镜观察表明,提纯病毒粒子为线条状,长度较为均一,多数为(470~580)×13 nm,平均长度为 515nm,病毒粒子聚集和断裂度很低,完整病毒粒子比率达 85% 以上。用提纯后的病毒接种千日红植株,100% 的植株发病,说明提纯的病毒具很高的生物活性。SDS-PAGE 不连续电泳结果显示,外壳蛋白呈现一条电泳带,说明其含单一外壳蛋白亚基,根据标准曲线测定分子量为 28.2kD(图 1),与 Alejandro^[12] 报道的 27~29kD 相符。

2.2 PVX-SD₁ CP 基因的克隆、序列分析及株系鉴定

2.2.1 PVX-SD₁ CP 基因的克隆和序列分析

用蛋白酶 K 酶解法从 PVX-SD₁ 提纯液中抽提病毒核酸,经 1.2% 的甲醛变性凝胶电泳。电泳结果表明,提取的 RNA 完整性较好,没有被明显降解。在紫外分光光度计上分别测定样品在 230nm(蛋白质吸收峰)、260nm(核酸吸收峰)和 280nm(蛋白质吸收峰)的吸收值。计算得 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 的比值为 1.84,OD₂₆₀/OD₂₃₀ 的比值为 2.12,说明提纯的病毒 RNA 纯度较高。

PVX-SD₁ 的病毒 RNA 经 cDNA 合成、PCR 扩增,产物在 1% 的琼脂糖凝胶电泳中呈现一条分子量约为 720bp 的 DNA 带。这一条带的分子量与报道的 CP 基因^[5] 分子量相同,说明这一条带即 CP 基因的扩增产物。经 PCR 扩增的 CP 基因克隆于 pUC19 后,转化大肠杆菌 DH5 α 。所获得的部分 PCR 阳性克隆碱裂解法提取质粒后,经 *Kpn* I 和 *Xba* I 酶切后电泳显示,重组质粒含有一条分子量约为 720bp 的 DNA 带,表明 CP 基因已插入到 pUC19 中。

PVX-SD₁ CP 基因的核苷酸序列测定由大连宝生物公司完成。测序结果用 DNASIS、DNAClub 软件分析,只有一个开放阅读框(open reading frame, ORF),其长度为 719bp,可编码 237 个氨基酸(图 1),向 NCBI 递交序列,获得序列号为 AF528555。

1	ATGTCAGCACCAGCTAGCACAAACAGCCCATAGGGTCAACTACCTCAACTACCACAAAACAGGCGCAACTCCTGCC	81
1	M S A P A S T T Q P I G S T T S T T T K T A G A T P A	27
82	ACAGCTTCAGGCCTGTTCACTATCCCGGATGGGGATTCTTTAGTACAGCCCGTCCATAGTAGCCAGCAATGCTGTCGCA	162
28	T A S G L F T I P D G D F F S T A R A I V A S N A V A	54
163	ACAAATGAGGACCTCAGCAAGATTGAGGCTATTTGGAAGGACATGAAGGTGCCACAGACACTATGGCACAGGCTGCTTGG	243
55	T N E D L S K I E A I W K D M K V P T D T M A Q A A W	81
244	GACTTAGTCAGACACTGTGCTGATGTAGGATCATCCGCTCAAACAGAAATGATAGATACAGGTCCTATTCCAACGGCATC	324
82	D L V R H C A D V G S S A Q T E M I D T G P Y S N G I	108
325	AGCAGAGCTAGACTGGCAGCAGCAATTAAGAGGTGTGCACACTTAGGCAATTTTGCATGAAGTATGCCCCAGTGGTATGG	405
109	S R A R L A A A I K E V C T L R Q F C M K Y A P V V W	135
406	AACTGGATGTTAACTAACACAGTCCACCTGCTAACTGGCAAGCACAAGGTTTCAAGCCTGAGCACAATTCGCTGCATTC	486
136	N W M L T N N S P P A N W Q A Q G F K P E H K F A A F	162
487	GACTTCTCAATGGAGTACCAACCCAGTCCATCATGCCAAAGAGGGGCTCATCCGCCACCGTCTGAAGCTGAAATG	567
163	D F F N G V T N P A A I M P K E G L I R P P S E A E M	189
568	AATGCTGCCAAACTGCTGCCTTTGTGAAGATTCAAAGGCCAGGGCACAATCCAACGACTTTGCCAGCCTAGATGCAGCT	648
190	N A A Q T A A F V K I T K A R A Q S N D F A S L D A A	216
649	GTCACTCGAGGTCGATCACTGGAACAACAACCCGCTGAGGCTGTTGTCACCTACCACCACCATAACATAA	719
217	V T R G R I T G T T T A E A V V T L P P P *	240

图 1 PVX-SD₁ CP 基因的核苷酸序列及推导的 CP 氨基酸序列

Fig. 1 The nucleotide and deduced amino acid sequence of PVX-SD₁ CP gene

2.2.2 PVX-SD₁ 与其它 PVX 株系 CP 基因的核苷酸及氨基酸序列比较和株系鉴定

从 GenBank 中查找确定 15 个不同国家和地区有代表性的 PVX 株系或分离物,与 PVX-SD₁ 一起由 DNAMAN 软件绘制进化树(图 2),进行 CP 基因的核苷酸和氨基酸序列同源性比较(表 1)。

根据系统进化树与核苷酸同源性矩阵将 PVX 株系或分离物划分为 2 个亚组,1~12 为亚组 1,13~14 为亚组 2。亚组 1 内各分离物之间序列同源性在 95.1% 以上,亚组 2 内各分离物之间序列同源性在 86.5% 以上,两个亚组之间同源性为 79.8%~81.0%。目前报道的亚洲所有株系或分离物均属于亚组 1,而欧洲、美洲则包括在两个亚组中。PVX-SD₁ 属于亚组 1,与亚组 1 核苷酸同源性在 96.0%~99.7%,氨基酸同源性在 97.0%~100%;与亚组 2 核苷酸同源性在 80.1%~80.6%,氨基酸同源性在 89.8%~90.7%。

将 PVX-SD₁ 与欧洲株系 UK₃ 和南美株系 HB 进行同源性比较发现,PVX-SD₁ 与 UK₃ 在核苷酸上有 99.7% 同源性,仅 1 个核苷酸不同,氨基酸同源性则达 100%,说明此核苷酸是同义突变。UK₃ 株系属于 X³ 组,据此认为,PVX-SD₁ 也属于 X³ 组的成员。

在 PVX 的各株系中,HB 株系是最特殊的一个。它不仅能够克服 N_x 和 N_b 的抗性,同时还能克服 R_x 基因的抗性,而 R_x 基因能有效地抵抗其它株系的侵染,产生 ER 反应^[6]。将 PVX-SD₁ 与 HB 株系比较,氨基酸同源性为 90.3%,决定症状类型的关键 121(122)、127(128)、226(227)位在所比较的 16 个 PVX 株系中,对于 10、13-15、16(HB)等株系为 121、127 和 226 位,对于 1-6、7(PVY-SD₁)、8、9、11、12 等株系为 122、128 和 227 位;HB 等株系与 PVY-SD₁ 等株系比较,在 29 位上缺失 1 个氨基酸的氨基酸残基均不同。其中 PVX-SD₁ 的 122 位点是苏氨酸(图 3)。

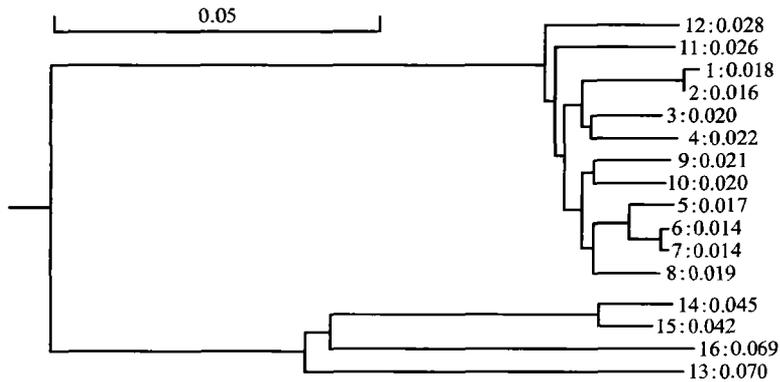


图2 PVX-SD₁ 与其它 PVX 15 个株系或分离物 CP 基因的进化树

Fig. 2 Tentative phylogenetic tree generated by DNAMAN of PVX-SD₁ and other 15 PVX strains for the coat protein sequence

Note: 1. Washington isolate (E01310); 2. Moscow isolate (NC-001455); 3. MS strain (Z34261, Argentina); 4. Beijing isolate (X65015); 5. Holand isolate (D00344); 6. UK₃ strain (M95516, UK); 7. PVX-SD₁ (AF528555, Shandong); 8. Japan isolate (D87962); 9. N₁₁ strain (X88784, UK); 10. Taiwan isolate (AF172259); 11. K₀₁ strain (AF260640, Korea); 12. ROTH₁ strain (AF111193, UK); 13. WS₂ strain (X88786, UK); 14. CP₄ strain (AF172259, UK); 15. CP strain (X55802, South America); 16. HB strain (Z23256, South America).

表1 PVX-SD₁ 与 PVX 15 个株系或分离物 CP 基因的核苷酸(下方)和氨基酸(上方)序列同源率(%)

Table 1 Nucleotide (below the diagonal) and amino acid (above the diagonal) sequence homology of CP gene among PVX-SD₁ and other 15 PVX strains (%)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1		99.6	97.9	97.5	97.9	97.0	97.0	97.5	97.9	97.9	97.5	96.2	89.0	89.8	89.0	89.4
2	99.7		98.3	97.9	98.3	97.5	97.5	97.9	98.3	98.3	97.9	96.6	89.4	90.3	89.4	89.8
3	96.8	97.0		99.6	100.0	99.2	99.2	99.6	100.0	100.0	99.6	98.3	90.3	91.1	90.3	90.7
4	96.7	96.9	97.5		99.6	98.7	98.7	99.2	99.6	99.6	99.2	97.9	89.8	90.7	89.8	90.3
5	96.4	96.6	96.5	96.9		99.2	99.2	99.6	100.0	100.0	99.6	98.3	90.3	91.1	90.3	90.7
6	96.2	96.5	96.6	96.8	98.7		100.0	98.7	99.2	99.2	99.2	98.7	90.3	90.7	89.8	90.3
7	96.2	96.5	96.6	96.8	98.5	99.7		98.7	99.2	99.2	99.2	98.7	90.3	90.7	89.8	90.3
8	95.8	96.1	96.8	96.2	97.6	97.5	97.8		99.6	99.6	99.2	97.9	90.3	91.1	90.3	90.7
9	96.1	96.3	96.9	96.2	96.9	96.8	96.8	97.5		100.0	99.6	98.3	90.3	91.1	90.3	90.7
10	96.1	96.4	96.6	96.2	97.2	97.1	97.1	97.4	97.6		99.6	98.3	90.3	91.1	90.3	90.7
11	95.7	96.0	96.3	95.7	96.2	96.5	96.5	96.2	96.2	96.4		98.7	90.7	90.7	89.8	90.3
12	95.1	95.4	95.9	95.8	95.7	96.0	96.0	95.7	95.6	96.0	95.8		90.3	90.3	89.4	89.8
13	79.9	80.2	80.6	80.2	79.7	80.1	80.2	79.9	80.5	79.9	79.9	80.1		96.2	95.8	94.1
14	80.2	80.4	79.8	80.6	79.9	80.2	80.4	79.9	80.5	80.0	80.0	80.0	80.0		99.2	97.0
15	80.6	80.9	80.2	81.0	80.4	80.6	80.6	80.3	80.9	80.6	80.3	80.3	88.8	97.9		96.2
16	80.1	80.3	79.9	80.2	79.9	80.3	80.1	79.8	79.9	79.8	80.2	79.9	86.5	87.8	88.0	

注: 1~16 株系或分离物同图2。 Note: 1~16 strains or isolates are the same as figure 2.

PVX-SD ₁	MSAPASTTQPIGSTTSTTTKTAGATPA	ASGLFTIPDGDFSTARAI	VASNAVATNEDLSKIEAIWKDMKVPTDTMAQAA	80
HB	-tt-n---av-----t-----		-----k-v-----t-qk-----i-s-----	79
PVX-SD ₁	WDLVRHCADVGSSAQTEMLDTGPPYSNGISRARLAAAIKEV	LRQF	PKYAPVYVWMLTNNSPANWQAQGFKEHKFA	160
HB	-----g-----v-----		-----	159
PVX-SD ₁	AFDFFNQVTNPAAIMPKELIRPPSEAEMNAQAATAAFVKI	TKARAQSNDFASLDAAVTRGRITG	TAEAVVTLPPP	237
HB	----d-----t-----		-----a-----is-----	236

图 3 PVX-SD₁ 与 HB 株系外壳蛋白氨基酸序列比较

Fig. 3 Amino acid sequences of the coat protein of PVX-SD₁ and HB strains

3 讨论

本研究克隆出 PVX-SD₁ 的完整的 CP 基因,长度 719nt,预测编码 25kD 外壳蛋白亚基,但在 SDS-PAGE 中测得的分子量却为 28.2kD,这一结果与 Alejandro^[12]的观察结果相一致,也就是说,根据核苷酸序列预测的长度与实际测得的长度不一致。经研究发现 CP 的转译后修饰可发生糖基化作用,从而使得 CP 的分子量增大。糖基化作用目前在弹状病毒组、大麦条纹花叶病毒和豇豆花叶病毒中发现。

PVX-SD₁ 与欧洲株系 UK₃ 在 CP 基因序列上具有高度的同源性。因为 CP 是决定与抗性基因互作的关键因子,据此推测它们在与抗性基因互作中可能属于同一反应类型,同属于 X³ 组。X³ 组的株系在含有 Nx、Rx 抗性基因的马铃薯上侵染能够产生 HR 反应,但在含 Nb 抗性基因的马铃薯上形成系统侵染。

HB 株系与其它株系的区别在于 CP 一个特定区域的二级结构发生了改变。Querci 等^[9]将 HB 与其它三个株系(CP、X₃、S)比较,用计算机进行突变分析,预测单个氨基酸改变对 CP 二级结构的影响,发现 121、226 位点影响蛋白的结构,如果将 HB 的 CP 蛋白 121 位上赖氨酸变成苏氨酸,此位置上的 α 螺旋会变成 β 折叠;同样,226 位上的丙氨酸变成缬氨酸,也会使原来的结构改变;这两个位点上的氨基酸取代会使 HB 株系的外壳蛋白转变成 CP 株系的外壳蛋白结构,从而改变其与寄主反应的类型。其中 226 位点的改变位于疏水区域,有可能被掩盖,因此认为,121 位点是 HB 株系独特的生物学特性的决定因子。同时,Goulden 等^[8]将 HB 株系和 CP₄ 株系进行突变和杂交的分析,证明外壳蛋白的 121 和 127 两个位点决定病毒能否打破 Rx 抗性,其中 121 位点是主要的决定因子,127 位点可能与维持突变的稳定性有关。

根据现有的研究资料可以看出,只有当 PVX 的外壳蛋白的 121(122)位点有一个苏氨酸残基时,才会诱导 Rx 抗性,这一苏氨酸残基在几乎所有的 PVX 分离物中均保守,唯独 HB 株系例外,这决定了只有 HB 株系能够打破 Rx 抗性。目前认为 Rx 是一个持久抗性,只有 HB 株系能够克服,其它马铃薯种植区还没有发现能打破 Rx 抗性的株系。我国目前尚无 HB 株系的报道。这些研究结果将对 PVX 的防治、抗病育种以及植物检疫等工作具有重要意义。

参 考 文 献

- 1 Baulcombe D C. Detection of strains of potato virus X and of a broad spectrum of potato virus Y isolates by nucleic acid spot

- hybridization. *Plant Disease*, 1988, 72:307 - 309
- 2 Torrance L, Larkins A P and Butcher G W. Characterization of monoclonal antibodies against potato virus X and comparison of serotype with resistance groups. *J. Gen. Virol.*, 1986, 67:57 - 67
 - 3 Koenig R. Potato virus X, *Potexvirus* group. AAB descriptions of plant viruses. UK: Institute of Horticultural Research, 1989, 9: NO:354
 - 4 Cockerham G. Strains of potato virus X. Proceedings of the Second Conference of Potato Virus Disease, Lisse-wagenin-gen, 1954, 89 - 92
 - 5 Cockerham G. Genetical studies on resistance to potato virus X and Y. *Heredity*, 1970, 25:309 - 348
 - 6 Kavanagh T, Goulden M, Cruz S S, *et al.* Molecular analysis of a resistance-breaking strain of potato virus X. *Virology*, 1992, 189:609 - 617
 - 7 Cruz S S, Baulcombe D C. Molecular analysis of potato virus X isolates in relation to the potato hypersensitivity gene Nx. *MPMI*, 1993, 6:707 - 714
 - 8 Goulden M G, Kohm B A, Cruz S S, *et al.* A feature of the coat protein of potato virus X affects both induced virus resistance in potato and viral fitness. *Virology*, 1997, 231:35 - 42
 - 9 Querci M, Vlugt R V, Goldbach R, *et al.* RNA sequence of potato virus X strain HB. *J. Gen. Virol.*, 1993, 74, 2251 - 2255
 - 10 周雪平, 李蔚民. 马铃薯 Y 病毒组病毒高产量提取方法的建立. *微生物学通报*, 1994, 21(3):184 - 186
 - 11 Tomlinson J A. Effect of phosphate and borate on the infectivity of some viruss during purification. *Nature*, 1963, 200:93 - 94
 - 12 Tozzini A C, Ek B, Palva E T, *et al.* Potato virus X coat protein: A glycoprotein. *Virology*, 1994, 202:651 - 658

Coat protein gene analysis and identification of an isolate of potato virus X

Qu Jing Zhu Changxiang Wen Fujiang Guo Xingqi Song Yunzhi
(College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract: An isolate of potato virus X (PVX-SD₁) was obtained from potato plants cultivated in Shandong Province. The coat protein (CP) gene of PVX was amplified from the extracted viral RNA by using reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), and cloned into plasmid pUC19. The nucleotide sequence of the CP gene was determined and compared with other isolates reported in GenBank. It shares 80.1% - 99.7% and 89.8% - 100% homology with the reported isolates at the sequence levels of nucleotide and deduced amino acid, respectively. PVX-SD₁ shares 99.7% and 100% homologies at the nucleotide and deduced amino acid levels, respectively, with one of the European strain UK₃, indicating that they could belong to the same strain.

Key words: potato virus X; coat protein gene; identification