

昆虫杆状病毒的蜕皮甾体尿苷二磷酸葡萄糖转移酶*

闫庆生 欧阳晓光 李充璧 庞 义

(中山大学昆虫学研究所, 生物防治国家重点实验室, 广州 510275)

摘要 昆虫杆状病毒的蜕皮甾体尿苷二磷酸葡萄糖转移酶 (ecdysteroid UDP-glucosyltransferase, EGT) 能催化 UDP-糖基连接到蜕皮甾体上, 使之失活, 从而阻止或推迟蜕皮, 有利于病毒复制, 所以缺失 *egt* 基因的病毒能改良杀虫效果, 如加速死亡和减少摄食量等. 最近几年的研究进展主要集中在基因和蛋白质的一级结构、酶催化反应、以及对宿主的生物学功能等几方面.

关键词 昆虫杆状病毒, 蜕皮甾体尿苷二磷酸葡萄糖转移酶, *egt* 基因

学科分类号 Q78

根据功能的不同, 昆虫杆状病毒基因组上的基因可以分为两类: 一类是病毒复制必需的; 另一类是非复制必需基因, 后者也叫做奢侈基因 (auxiliary genes), 能增强病毒增殖中某些方面的能力. 蜕皮甾体尿苷二磷酸葡萄糖转移酶 (ecdysteroid UDP-glucosyltransferase, EGT) 基因就是一种非必需基因^[1, 2].

1 *egt* 基因和蛋白质的一级结构

egt 基因是一个祖先基因, 可能所有杆状病毒都有这个基因, 已知 EGT 的大小都大致相近. AcNPV *egt* 基因编码 506 个氨基酸残基的蛋白质, 在感染早期转录两条 1.8 kb 和 3.0 kb 的 mRNA^[1]. 在 ATG 上游的位置 (-50 ~ -70 位) 都有典型的真核生物基因启动子区域 TATA 盒. SDS-PAGE 显示成熟的 EGT 大约 60 ku, AcNPV 的 EGT 上有 7 个糖基化位点, 这些糖基与酶活性无关^[2]. EGT 是分泌性蛋白, 其 N 端都有信号肽, 含有很高比例的疏水性氨基酸残基^[2].

EGT 属于 UDP-糖基转移酶 (UDP-glycosyltransferase, UGT) 类, 动物, 植物, 细菌和线虫体内都有这种酶类, 其主要功能是催化 UDP-糖基与受体结合^[3]. 这类酶 C 端有酶活性必需的 7 个氨基酸残基绝对保守, 例如, 如果把人胆红素 UDP-葡萄糖醛酸内脂苷转移酶 (UDP-glucuronosyltransferase) 的 309 位甘氨酸用谷氨酰胺取代, 则失去酶活性^[2].

杆状病毒的 *egt* 是测定序列最多的基因之一, 根据其保守性进行分子进化的分析, 从而研究昆虫病毒的进化, 有时 *egt* 比多角体基因更能阐述病毒

之间的亲源关系^[4].

2 EGT 酶催化反应

O' Reilly 首次发现 AcNPV EGT 在体外能催化 UDP-葡萄糖连接到蜕皮激素 (ecdysone) 的 22 位碳原子 (C22) 的羟基上, 形成蜕皮激素 22-O-β-D-吡喃葡萄糖苷^[3]. 另外, 它也能催化连接到其类似物的 C22 羟基上, C22 羟基是 EGT 催化连接反应的必需受体基团^[3].

在体外 EGT 能利用 UDP-葡萄糖或 UDP-乳糖作为糖基供体; 在体内不同病毒翻译的 EGT 针对不同宿主的蜕皮甾体所使用糖基供体不同, 存在特异性, 因而在功能上有差别^[2].

3 EGT 的生物学功能

感染野生型病毒的幼虫, 当 EGT 催化糖基连接到蜕皮甾体后, 蜕皮受抑制^[2], 抑制蜕皮比例与感染量成正比, 与幼虫龄期成反比. 缺失 *egt* 的病毒明显改良了其杀虫效果, 如加速死亡和减少摄食量, 相对比野生型病毒减少摄食量 30% ~ 40%, 缩短半数致死时间 20% ~ 30%. 但是子代病毒产量下降 20% ~ 30%^[2].

egt 可以使病毒获益. 首先是增加子代病毒复制多角体数量, 缺失 *egt* 的 AcNPV 比野生型 AcNPV 的子代多角体量减少 23%^[2]. 昆虫幼虫蜕皮时停止摄食, EGT 抑制幼虫蜕皮, 所以相对摄食多而复制出更多的子代病毒, 加强病毒传播. 而

* 国家自然科学基金重点项目 (39730030) 及“九五”国家重点科技攻关项目 (96-01-01-04) 资助.

收稿日期: 1998-03-10, 修回日期: 1998-08-17

EGT 延迟了宿主死亡及子代病毒的释放, 又不利于病毒传播, 所以, 病毒是如何解决这对矛盾的, 可能与 *egt* 表达调控有关^[2]. 其二, 改变感染幼虫的行为. 许多鳞翅目昆虫在土壤表层化蛹, 这样不利于病毒传播, 但是 EGT 抑制幼虫蜕皮和化蛹而使之停留在取食植物上. 其三, 通过 EGT 反应产物来影响靶器官或组织, 这可能是感染缺失 *egt* 病毒幼虫加快死亡的原因. 用缺失 *egt* 的 AcNPV 感染甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*) 幼虫时发现马氏管过早被破坏, 而野生型病毒感染的幼虫马氏管没有变化, 病毒介导马氏管的退化是蜕皮激素调节的^[5], 要想明确 EGT 与马氏管的关系还需要进一步研究. 还有, 在体内蜕皮激素限制杆状病毒复制. 体内注射 20-羟基蜕皮激素, 病毒复制在昆虫变态期间被中断, 将延迟感染病虫的病理过程和降低死亡率. 蜕皮激素还可以引起不同组织 (包括马氏管) 的应急反应, 如先升后降是细胞凋亡发生的信号, 显然蜕皮激素不利于病毒复制, 而 EGT 可以灭活蜕皮激素.

大致可以提出 *egt* 基因功能的轮廓, 病毒感染幼虫后, EGT 被分泌到幼虫血淋巴中, 并不断积累, 催化糖基与蜕皮激素连接而使其失活. 如果蜕皮激素的滴度不足, 那么就会阻止蜕皮, 增加摄食量和子代病毒产量.

4 EGT 对发展杆状病毒杀虫剂的意义

上已述及, 昆虫杆状病毒的 *egt* 是一种非必需基因, 缺失 *egt* 能改良病毒杀虫效果. 美国环境保护署 (U. S. Environmental Protection Agency) 在 1993 年批准了第一个重组病毒——缺失 *egt* 的 AcNPV 用于田间释放实验, 可见, 通过缺失非必需基因来改良病毒杀虫剂具有广阔的发展前景.

参 考 文 献

- 1 O' Reilly D R, Miller L K. Regulation of expression of a baculovirus pesticide ecdysteroid UDP-glucosyltransferase gene. J

Virol, 1990, **64** (3): 1321~ 1328

- 2 O' Reilly D R. Baculovirus-encoded ecdysteroid UDP-glucosyltransferases. Insect Biochem Mol Biol, 1995, **25** (4): 541~ 550
- 3 O' Reilly D R, Miller L K. A baculovirus blocks insect molting by producing ecdysteroid UDP-glucosyltransferase. Science, 1989, **245** (4922): 1110~ 1112
- 4 闫庆生, 庞 义, 杨 洁, 等 (Yan Q S, Pang Y, Yang J, *et al*). 斜纹夜蛾核多角体病毒 *egt* 基因的核苷酸全序列分析及同源性比较. 生物工程学报 (Chinese Journal of Biotechnology), 1999, **15** (2): 50~ 56
- 5 Flipsen J T M, Mans R M W, Kleetsman A W F, *et al*. Deletion of the baculovirus ecdysteroid UDP-glucosyltransferase gene induces early degeneration of Malpighian tubules in infected insects. J Virol, 1995, **69** (7): 4529~ 4532

Insect Baculovirus-encoded Ecdysteroid UDP-Glucosyltransferases. YAN Qing-Sheng, OUYANG Xiao-Guang, LI Chong-Bi, PANG Yi (*Institute of Entomology and State Key Laboratory for Biocontrol, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China*).

Abstract Insect baculovirus-encoded ecdysteroid UDP-glucosyltransferase (EGT) are not essential enzymes which catalyze the conjugation of ecdysteroids with UDP-glucose. *In vivo*, the sugar conjugation of ecdysteroids by EGT causes suppression of host molting. The deletion of *egt* gene actually improves the pesticidal properties of the baculovirus. Insects infected by an *egt*-minus virus display reduce feeding and earlier death than those infected by wild-type virus. The recent advances in the studies of the *egt* gene and protein, EGT-catalyzed conjugation, EGT effects on host development and survival as well as biological role of EGT are introduced.

Key words insect baculovirus, ecdysteroid UDP-glucosyltransferase, *egt* gene