

传染性造血器官坏死病毒-Sn 株基质蛋白 基因克隆及生物信息学分析

徐黎明, 刘洪柏, 卢彤岩*

(中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070)

摘要: 基质蛋白(matrix protein, M)是传染性造血器官坏死病毒(infectious haematopoietic necrosis virus, IHNV)主要结构蛋白之一,是病毒感染后造成细胞凋亡的主要作用蛋白。为分析 IHNV M 蛋白的序列及结构特征,研究利用敏感细胞(EPC)培养传染性造血器官坏死病毒-Sn 分离株(IHNV-Sn),根据 M 蛋白基因开放阅读框(open reading frame, ORF)的序列设计引物,利用 RT-PCR 的方法克隆得到 M 蛋白全长 ORF,并且构建至表达载体 pET27b(+)中,构建出 pET27-M 重组质粒。生物信息学分析结果显示,M 蛋白基因的序列长度为 588 bp,编码 195 个氨基酸残基,推导分子量约为 21.88 ku,等电点为 9.35;氨基酸序列分析表明,M 蛋白富含丝氨酸、苏氨酸以及碱性氨基酸,存在丰富的 α -螺旋、 β 折叠和无规则卷曲;M 蛋白不含有信号肽;疏水性大于亲水性;没有跨膜区存在;抗原表位预测显示抗原性良好;结构预测显示,不存在 N-糖基化位点,存在 7 个潜在的 O-糖基化位点和 15 个潜在的磷酸化位点。系统进化树分析显示,IHNV-Sn 株与美国分离株同为一簇。

关键词: 传染性造血器官坏死病毒-Sn 株; 基质蛋白; 生物信息学分析

中图分类号: Q 939.4; S 943

文献标志码: A

传染性造血器官坏死病(infectious haematopoietic necrosis, IHN)是极其严重的鱼类急性全身性传染病,世界动物卫生组织(OIE)将其列为必须申报的动物疫病,为我国的二类疫病^[1-2]。据不完全统计,IHN 的爆发造成的虹鳟大鱼死亡率为 10%~25%,鱼苗死亡率可达 100%^[3]。目前我国没有有效的防控药物,IHN 已成为制约我国冷水鱼养殖健康和可持续发展的瓶颈问题。IHNV 属弹状病毒科(Rhabdoviridae),诺拉弹状病毒属(Novirhabdovirus)。IHNV 病毒粒子含有一条线状、反义、单链的 RNA,全基因组长度约为 11 kb;从 3'端至 5'端依次包含 N-P(M1)-M-G-NV-L 6 个基因,分别编码病毒核蛋白、磷蛋白、基质蛋白、糖蛋白、非结构蛋白和聚合酶蛋白^[4-5]。基质蛋白 M 是鱼类弹状病毒的主要结构蛋白之一,富含丝氨酸和苏氨酸,呈磷酸化,且高度碱性^[6-8]。鱼

类弹状病毒的 M 蛋白具有多种重要的功能作用,主要是通过病毒的螺旋状核衣壳及插入宿主胞膜内的 G 蛋白胞浆结构域相互作用,以启动病毒粒子的装配、出芽^[9]。研究表明 IHNV 的 M 蛋白能抑制宿主细胞的基因转录,并能诱导细胞程序性死亡^[10]。利用 M 蛋白的细胞凋亡作用,Alonso 等^[11]设计了 IHN 自杀性核酸疫苗,在获得免疫保护之后诱导含有核酸疫苗的细胞程序性死亡,以期通过该方法解决核酸疫苗残留带来的潜在的安全性问题,目前该项研究取得了一定的进展。

目前国内尚无有效防控 IHN 的药物,因此对 IHNV 病毒本身特性的了解对疾病防控药物的研究具有重要的指导意义。病毒性疾病存在一定的区域性,不同时空分离到的病毒可能具备不同的血清型,因此极有必要对目前我国主要 IHNV 流行毒株进行基础研究。本研究以本实验室在流行

收稿日期:2013-01-03 修回日期:2013-03-13

资助项目:国家科技支撑计划(2012BAD25B02);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2012A0504);黑龙江省冷水性鱼类种质资源及增殖重点开放实验室(201104)

通信作者:卢彤岩, E-mail: lutongyan@hotmail.com

病学调查期间分离保存的 IHN-V-Sn 株基因组为模板,成功克隆了基质蛋白基因-M 蛋白基因,并对其进行生物信息学分析,旨在为传染性造血器官坏死病毒的基因背景信息、致病机理和分子流行病学研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

IHN-V-Sn 由本实验室分离保存;鲤上皮瘤细胞(EPC)由中国水产科学院长江水产研究所鱼病组曾令兵教授惠赠;SV Total RNA Isolation

system 购自 Promega 公司;RT-PCR 一步反应试剂盒和 DNA Marker 购自 TaKaRa 公司;胶回收试剂盒购自 Omega 公司;大肠杆菌 JM109 为本实验室保存。其他试剂均为国产分析纯。

1.2 引物设计与合成

根据 GenBank 收录的 IHN-V 基质蛋白的基因序列进行多条比对,利用 Primer Premier 5.0 设计保守引物用于 M 蛋白基因的扩增,上游引物和下游引物分别带有 *Nco* I 和 *Bam*H I 酶切位点,引物由哈尔滨博仕生物公司合成(表 1)。

表 1 PCR 扩增 IHN-V 基质蛋白基因所用引物
Tab.1 PCR primers used for amplification of matrix protein cDNA

| 引物 primer | 序列 primer sequence | 退火温度/℃ annealing temperature |
|--------------|---|---------------------------------|
| pMF | 5'-CATG <u>CCATGG</u> AAATGTCTATTTTCAAGAGAGC-3' | 55 |
| pMR | 5'-CG <u>GGATCC</u> CTATTTTTCCTTCCCCCGC-3' | 52 |

注:划线部位为引入的酶切位点。

Notes: The underlined nucleotides indicate creation of a restriction site.

1.3 病毒的扩增

将病毒悬液用细胞维持液(含有 2% FBS 的 MEM 培养基)稀释 1 000 倍,然后接种 1 mL 到已经长满单层的 EPC 细胞上,于 15 ℃ 下孵育 1 h,弃去含有病毒的细胞液,加入 5 mL 细胞维持液于细胞培养瓶内,于 15 ℃ 培养。当 80% 以上细胞出现细胞病变(cytopathic effect, CPE),收集细胞培养液(即病毒悬液),分装保存于 -80 ℃ 冰箱备用。

1.4 病毒 RNA 提取

吸取病毒悬液 0.125 mL,按照 SV Total RNA Isolation system 试剂盒操作说明书进行 IHN-V 基因组 RNA 提取。

1.5 基质蛋白基因的克隆、表达载体构建和序列分析

提取的 IHN-V 基因组 RNA 利用 RT-PCR 一步反应试剂盒(TaKaRa)扩增 IHN-V-Sn 分离株的 M 蛋白基因,PCR 扩增反应体系:2 × 1 step buffer 25 μL, enzyme mix 2 μL, pMF 和 pMR 引物(10 pmol/μL)各 1 μL,1.4 步骤获得的 RNA 10 μL,用无菌水补充至 50 μL。PCR 扩增程序:94 ℃ 预变性 5 min,94 ℃ 变性 1 min,50 ℃ 退火 1 min,72 ℃ 延伸 50 s,30 个循环;72 ℃ 10 min。

将一步反应 PCR 产物进行 1% 的琼脂糖凝胶

回收,回收产物进行 *Nco* I 和 *Bam*H I 双酶切后与 pET27b(+)载体 16 ℃ 连接过夜,连接产物转化感受态大肠杆菌 JM109,涂布含卡那霉素的 LB 平板,分别挑取单菌落扩大培养提取质粒进行双酶切鉴定。挑选阳性克隆委托上海生工生物工程技术服务有限公司测序,测序结果正确的克隆被命名为 pET27-M。

1.6 基因编码蛋白的生物信息学分析

利用 Primer Premier 5.0 软件翻译出基质蛋白基因的核苷酸序列;利用 SignalP v3.0(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)软件进行氨基酸序列信号肽的在线分析;利用 TMHMM Server v. 2.0(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)软件进行跨膜区分析;利用 ProtScale(<http://www.expasy.ch/tools/protscale.html>)软件分析 M 蛋白的疏水性;利用 BepiPred 1.0 Server(<http://www.cbs.dtu.dk/services/BepiPred/>)软件和 DNASTar 6.0(Protean)对基质蛋白基因序列编码的蛋白进行抗原表位分析;分别利用 NetNGlyc 1.0(<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/>)和 YinOYang 1.2(<http://www.cbs.dtu.dk/services/YinOYang/>)在线分析软件进行 N-糖基化位点和 O-糖基化位点预测,利用 NetPhos 2.0(<http://www.cbs.dtu.dk/>)

<http://www.sexuebao.cn>

services/NetPhos/) 进行磷酸化位点预测^[12-13]。

1.7 IHNV-Sn 株基质蛋白基因的系统进化树分析

利用 NCBI blast 工具对 M 蛋白进行同源性分析,选择 GenBank 同源性较高的 IHNV 美国株、日本株和韩国株的 M 蛋白氨基酸序列,应用软件 MEGA 5.0 构建基于 M 蛋白氨基酸序列的系统进化树,分析其与已发表的国外毒株之间的进化关系。用于序列比对及系统进化树构建的 M 蛋白来源及登录号列于表 2。

2 结果

2.1 病毒的扩增

按照 1:1 000 稀释的 IHNV-Sn 病毒接种于

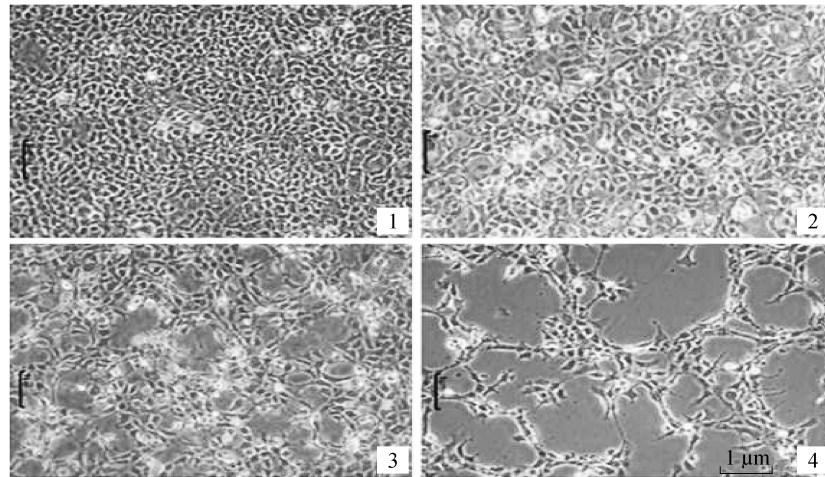


图 1 接种 IHNV-Sn 的 EPC 细胞出现的病变

1. 正常 EPC 细胞,2~4. 分别为在 EPC 细胞中接种 1:1 000 稀释的病毒液 48、72 和 96 h 后细胞病变。

Fig. 1 Cytopathic effect of EPC inoculated with IHNV-Sn isolated strain

1. normal EPC, 2-4. cytopathic effect of EPC inoculated with IHNV-Sn for 48, 72 and 96 h.

2.2 IHNV-Sn 株基质蛋白基因的扩增和表达载体的构建

以感染 IHNV-Sn 分离株的细胞培养液提取的 RNA 为模板, pMF 和 pMR 为引物 PCR 扩增基质蛋白基因片段, 1% 琼脂糖凝胶电泳结果显示出现单一条带, 与目的条带大小相符 (588 bp) (图 2)。回收扩增产物与 pET27b(+) 连接后挑取单克隆、提取质粒进行双酶切鉴定, 结果显示出现与目的条带相符的基因片段 (图 3), 将获得的阳性重组质粒 pET27-M 进行测序分析。对结果进行 BLAST 比对发现, 得到的基因序列和已报道的 IHNV 基质蛋白序列相似性最高达 98%, 证明获得的基因序列为基质蛋白基因。

EPC, 单层细胞 48 h 后开始出现病变, 96 h 后使大于 80% 的细胞出现 CPE (图 1)。

表 2 用于构建系统进化树的 IHNV 基质蛋白来源及登录号

Tab. 2 Sources and GenBank accession numbers of matrix protein of IHNV for phylogenetic tree construction

| 毒株 virus strain | GenBank 登录号 accession number | 毒株 virus strain | GenBank 登录号 accession number |
|--------------------|---------------------------------|--------------------|---------------------------------|
| IHNV-Sn12 | KC430929 | Hen02 | BAF42788 |
| Baker Lake 94 | ADV35144.1 | Hch01 | BAF42784 |
| Oregon69 | Q08453 | HLM-3 | BAF42780 |
| 220-90 | ADB93798 | IHNV-PRT | AAT99396 |
| RB1 | ADV35146 | WRAC | NP_042678 |
| Hhi01 | BAF42785 | HV7601 | BAE17143 |

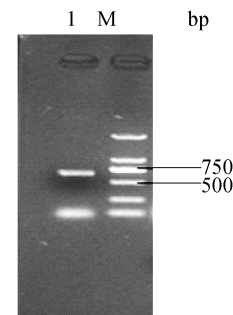


图 2 M 基因扩增产物的电泳图

1. M 基因片段; M. DL2000 分子量标准。

Fig. 2 Agarose gel analysis of matrix protein PCR products

1. PCR product of matrix protein; M. DL2000 DNA ladder.

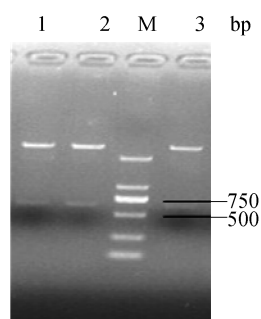


图3 pET27-M 双酶切鉴定电泳分析

1~3. M 基因片段; M. DL2000 分子量标准。

Fig. 3 Agarose gel analysis of dual-digestion of pET27-M

1~3. PCR product of matrix protein; M. DL2000 DNA ladder.

2.3 IHNV-Sn 株 M 蛋白基因编码蛋白的生物信息学分析

基质蛋白 ORF 全长 588 bp, 编码包含 195 个

氨基酸的蛋白质, 分子量约为 22 ku, 等电点为 9.35。该基质蛋白富含丝氨酸和苏氨酸, 富含碱性氨基酸。利 SWISS-MODEL (<http://swissmodel.expasy.org/>) 对 IHNV-Sn 株 M 蛋白 α -螺旋、 β 折叠、转角、无规则卷曲和柔性区域进行了预测, 结果显示 M 蛋白含有 3 个主要的 α -螺旋区、3 个 β 折叠股和多个无规则卷曲(图 4)。

信号肽分析 将测得的 M 蛋白氨基酸序列在丹麦技术大学生物序列分析中心(CBS)的网站上进行在线分析, 通过 SignalP 4.1 对信号肽位置及切割位点的进行预测。本研究使用 Neuralnet-work 模型对信号肽的分泌途径以及切割位点进行预测, 预测值标示为 S-score, 结果显示该基质蛋白不存在信号肽, 如图 5 所示。此结果说明基质蛋白在运输过程中不需要进行跨膜运输, 直接合成于细胞浆后被包装于病毒粒子内部。

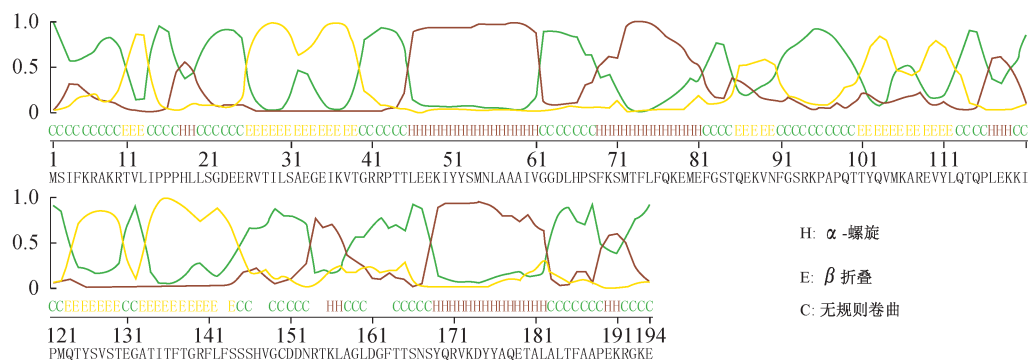


图4 M 蛋白的二级结构预测

Fig. 4 Secondary structure prediction of matrix protein

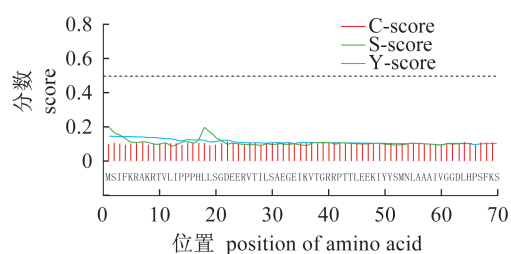


图5 IHNV-Sn 株 M 蛋白的信号肽预测

Fig. 5 The prediction of signal peptide of IHNV-Sn strain matrix protein

基因的跨膜区分析 利用 TMHMM Server v. 2.0 对 M 蛋白的跨膜区进行分析, 结果显示 IHNV-Sn 株 M 蛋白不含有任何跨膜区(图 6), 该结果与 M 蛋白为病毒粒子非表面结构蛋白事实相符合。

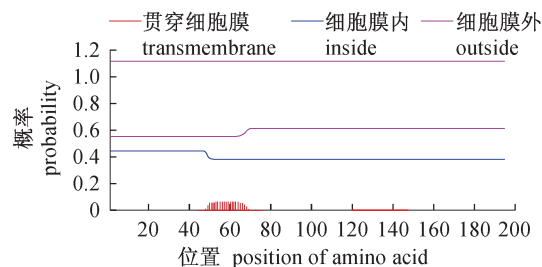


图6 IHNV-Sn 株 M 蛋白的跨膜区分析

Fig. 6 Transmembrane domain analysis of IHNV-Sn strain matrix protein

疏水性分析 通过 ProtScale 在线分析表明, IHNV-Sn 株 M 蛋白疏水性大于亲水性(图 7), 该预测结果与 M 蛋白为病毒粒子内部结构蛋白的事实相符合。

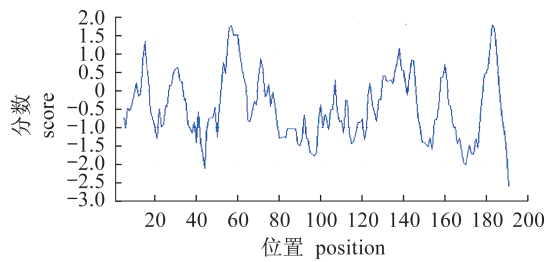


图 7 IHN-V-Sn 株 M 蛋白的疏水性分析序列

Fig.7 Hydrophobicity analysis of IHN-V-Sn strain matrix protein

抗原表位分析 用 <http://www.cbs.dtu.dk/services/BepiPred/> 在线软件及 DNASTar 6.0 (Protean) 对 IHN-V-Sn 株 M 蛋白进行抗原表位分析,结果显示其有多处抗原指数较高区域(图 8),说明抗原表位很有可能存在在这些区段,这

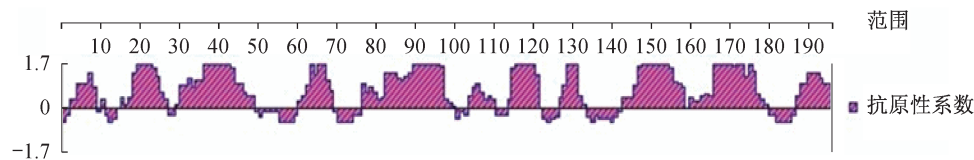


图 8 IHN-V-Sn 株 M 蛋白的抗原表位分析

Fig.8 The prediction of the antigenic determinants of matrix protein from IHN-V-Sn

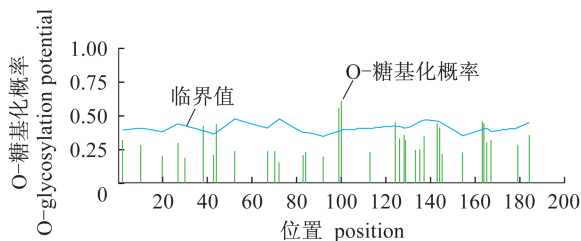


图 9 IHN-V-Sn 株 M 蛋白的 O-糖基化位点预测

Fig.9 The prediction of the O-glycosylation of matrix protein from IHN-V-Sn

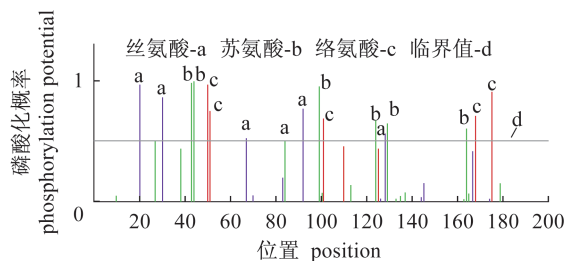


图 10 IHN-V-Sn 株 M 蛋白的磷酸化位点预测

Fig.10 The prediction of the phosphorylation of matrix protein from IHN-V-Sn

些抗原表位可能与该病毒造成的细胞凋亡有关,有待进一步研究证实。

糖基化及磷酸化位点的预测 分别通过 NetNGlyc1.0 在线分析软件和 YinOYang1.2 在线分析软件对 IHN-V-Sn 株 M 蛋白进行 N-糖基化位点和 O-糖基化位点预测。结果表明,其氨基酸序列不存在潜在的 N-糖基化位点;分别在 38、44、99、100、124、163 和 164 位存在 7 个潜在的 O-糖基化位点(图 9)。用 NetPhos 2.0 在线分析软件对 IHN-V-Sn 株基质蛋白进行磷酸化位点进行预测,结果显示,当阈值取 0.5 时,其氨基酸存在 15 个潜在的磷酸化位点(包括 4 个 Ser-丝氨酸、6 个 Thr-苏氨酸和 5 个 Tyr-酪氨酸位点)(图 10),这些修饰可能与基质蛋白的生物学功能有着密切的联系。

2.4 IHN-V-Sn 株基质蛋白基因的系统进化树分析

从 GenBank 中查找与 IHN-V-Sn 基质蛋白具有同源性的其它 IHN-V 的 M 蛋白氨基酸序列,采用邻位相连法,步长为 1 000,构建系统进化树(图 11)。进化树分析结果显示 IHN-V-Sn 株与美国分离株(Bake lake 94、Oregon69、220-90、RB1、和 WRAC)为同一分支,日本分离株(Hhi01)和韩国分离株(IHN-V-PRT)具有更近的亲缘关系。

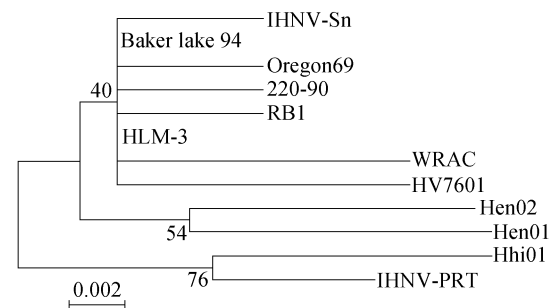


图 11 IHN-V-Sn 株 M 蛋白的系统进化树
Fig.11 Phylogenetic tree of matrix protein of IHN-V-Sn

3 讨论

本研究成功获得了 588 bp 的 M 蛋白全长 ORF 基因。生物信息学分析表明,其编码的蛋白含有丰富的丝氨酸和苏氨酸,且高度碱性,与国外相关报道一致;使用 Neural net-work(NN)模型对 M 蛋白信号肽进行预测,显示其没有信号肽序列,对基质蛋白的疏水性分析和跨膜区分析结果显示, M 蛋白具有一定的疏水性,没有跨膜区存在,以上结果说明 M 蛋白不需要进行跨膜运输等过程即可参与病毒的包装,并且属于病毒内部结构蛋白;通过分析软件分析表明,其氨基酸序列不存在潜在的 N-糖基化位点,具有 7 个潜在的 O-糖基化位点,糖基化是真核生物蛋白质翻译后的一个重要修饰过程,与蛋白的生物学功能密切相关,这些潜在的糖基化位点可能与 M 蛋白的生物学功能有着直接的联系,除此之外,O-糖基化位点可提高蛋白基因组的多样性^[14]。研究表明,N-糖基化作用位点与抗原性和免疫原性有关^[13,15],对 M 蛋白的抗原表位分析结果显示 M 蛋白具有很多处抗原决定簇,目前对 M 蛋白抗原性分析的研究较少,只有研究表明 M 蛋白不存在中和抗原表位^[16],对于非中和抗原表位的存在与否需要进一步实验证明;系统进化树分析表明,IHNV-Sn 株 M 蛋白基因与多株美国分离株(Bake lake 94、Oregon69、220-90、RB1 和 WRAC)聚为一簇,而日本分离株(Hhi01)和韩国分离株(IHNV-PRT)聚为一簇,所以可怀疑 IHNV-Sn 是由欧美国家传播至我国。

IHNV-Sn 株是由本实验室于 2012 年 5 月从山东某养殖场发病虹鳟鱼体内分离纯化,该病毒造成当地虹鳟养殖场鱼苗 90% 以上的死亡率,是造成当地虹鳟鱼苗大量死亡的主要原因(攻毒数据这里未给出)。本研究首次对 IHNV-Sn 流行株 M 蛋白进行克隆和序列的生物学分析。对获得的 M 蛋白序列进行了组成特征分析、二级结构分析、同源性比对以及进化关系分析等研究,系统分析了传染性造血器官坏死病毒流行株 IHNV-Sn 株的 M 蛋白分子结构特征,并且构建了原核表达载体,为进一步研究 M 蛋白的功能奠定基础,为进一步研究 IHNV 致病机理等提供理论指导。

参考文献:

- [1] LaPatra S E. The use of serological techniques for virus surveillance and certification of finfish [J]. *Annual Review of Fish Diseases*, 1996, 6 (5): 15-28.
- [2] Wolf K. Fish viruses and fish viral diseases [M]. Ithaca: Cornell University Press, 1988.
- [3] Winton J R. Recent advances in detection and control of infectious hematopoietic necrosis virus in aquaculture [J]. *Annual Review of Fish Diseases*, 1991, 1(3): 83-93.
- [4] 吴金炉,曾志南. 鱼类病毒病与鱼类病毒疫苗 [J]. *海洋科学*, 1999(4): 37-42.
- [5] Kurath G, Leong J C. Characterization of infectious hematopoietic necrosis virus mRNA species reveals a nonvirion rhabdovirus protein [J]. *Journal of Virology*, 1985, 53(2): 462-468.
- [6] Johanson T, Ostman-Myuyuja L, Hellstrom A, et al. A novel fish rhabdovirus from Sweden is closely related to the Finnish rhabdovirus 903/87 [J]. *Virus Genes*, 2002, 25(5): 127-138.
- [7] Benmansour A, Paubert G, Bernard J, et al. The polymerase-associated protein (M1) and the matrix protein (M2) from a virulent and an avirulent strain of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV), a fish rhabdovirus [J]. *Virology*, 1994, 198(2): 602-612.
- [8] Nishizawa T, Kurath G, Winton J R. Sequence analysis and expression of the M1 and M2 matrix protein genes of hiram rhabdovirus (HIRRV) [J]. *Disease of Aquatic Organisms*, 1997, 31(1): 9-17.
- [9] Garuf H, Hewson R, Opstelten D J E. Virus maturation by budding [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1998, 62(4): 1171-1190.
- [10] Chiou P P, Kim C H, Ormonde P, et al. Infectious hematopoietic necrosis virus matrix protein inhibits host-directed gene expression and induces morphological changes of apoptosis in cell cultures [J]. *Journal of Virology*, 2000, 74(16): 7619-7627.
- [11] Alonso M, Chiou P P, Leong J A. Development of a suicidal DNA vaccine for infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2011, 30(3): 815-823.
- [12] 周井祥,李新伟,王好,等. 锦鲤疱疹病毒-CJ 株 ORF81 基因的克隆及生物信息学分析 [J]. *水产学报*, 2011, 35(12): 1780-1786.
- [13] 阮密密,蔡秋风,刘光明,等. 鲫和鳊主要过敏原小清蛋白的基因克隆及序列分析 [J]. *水产学报*, 2012, 36(11): 1650-1657.
- [14] Weerapana E, Imperiali B. Asparagine-linked protein

- glycosylation; from eukaryotic to prokaryotic systems [J]. *Glycobiology*, 2006, 16(6): 91-101.
- [15] Gunn P R, Sato F, Powell K F, *et al.* Rotavirus neutralizing protein VP7: antigenic determinants investigated by sequence analysis and peptide synthesis [J]. *Journal of Virology*, 1985, 54(3): 791-797.
- [16] Corboil S, Lapatra S E, Anderson E D, *et al.* Evaluation of the protective immunogenicity of the N, P, M, NV and G proteins of infectious hematopoietic necrosis virus in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* using DNA vaccines [J]. *Disease of Aquatic Organisms*, 1999, 39(1): 29-36.

Cloning and bioinformatics analysis of matrix protein from IHNV-Sn isolate

XU Liming, LIU Hongbai, LU Tongyan*

(*Heilongjiang River Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China*)

Abstract: Matrix protein is one of the structure proteins of infectious haematopoietic necrosis virus (IHNV), and its synthesis leads to apoptosis or programmed cell death in the transfected cells. To study its structure and function, the open reading frame of matrix protein gene was amplified by RT-PCR from IHNV-Sn isolate and cloned into plasmid pET27b(+) vector. The structure and characteristics of the gene were studied by means of bioinformatics software. The results are described as follows: the length of the M gene, encoding 195 aa, was 588 bp. The molecular weight was 21.88 ku and the isoelectric point was 9.35. The matrix protein was rich in serine, threonine and alkaline amino acid, and was composed of plenty of α -helix, extended β and coil. The protein is hydrophobic with no signal peptide and transmembrane regions. The antigenicity of matrix protein was good. According to the protein structure prediction, there might be no N-glycosylation sites, and there were 7 O-glycosylation sites and 15 phosphorylation sites in matrix protein. Phylogenetic analysis showed that the IHNV-Sn isolate was in the same branch with the isolates from America. The study established the foundation for genetic background information, pathogenesis, molecular epidemiology research of IHNV.

Key words: infectious hematopoietic necrosis virus-Sn isolate; matrix protein; bioinformatics analysis

Corresponding author: LU Tongyan. E-mail: lutongyan@hotmail.com