

核型多角体病毒基因组学研究进展

罗 辑^{1,2}, 周国英^{2*}, 朱积余¹

(1 广西壮族自治区林业科学研究院, 广西 南宁 530002; 2. 中南林业科技大学林学院, 湖南 长沙 410004)

摘要:昆虫病毒是专性感染节肢动物的一类微生物,包括核型多角体病毒、颗粒体病毒、质型多角体病毒、痘病毒、虹彩病毒等很多类群。核型多角体病毒属于杆状病毒科(*Rhabdoviridae*)核型多角体病毒属(*Nucleopolyhedrovirus*),是昆虫病毒中最大的类群。它能够专一性地侵染并杀死一种或者几种农林害虫,并且对害虫天敌、环境、人畜无害,是一种值得推广的绿色生物农药。本文总结了获得全基因组序列的核型多角体病毒,综述了核型多角体病毒的基因组主要功能基因(RNA转录相关基因、DNA复制相关基因、结构相关基因)及其他基因,并对核型多角体病毒今后的发展方向进行了展望。

关键词:核型多角体病毒;基因组学;生物防治;研究进展

中图分类号:S763.3

文献标识码:A

Progress in Nuclear Polyhedrosis Virus Genomics

LUO Ji^{1,2}, ZHOU Guo-ying², ZHU Ji-yu¹

(1. Guangxi Zhuang Autonomous Region Forestry Research Institute, Nanning 530002, Guangxi, China;

2. College of Forestry, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, Hu'nan, China)

Abstract: Insect viruses are the microbes infecting arthropods only, including nuclear polyhedrosis virus, granulosis virus, cytoplasmic polyhedrosis virus, poxvirus, iridovirus and many other groups. The nuclear polyhedrosis virus belongs to Rhabdoviridae *Nucleopolyhedrovirus*, which is the largest group of insect viruses. It can infect and kill one or several agricultural and forestry pests specifically, and is harmless to the natural enemies, environment, human and animals. So it is considered as the environment-friendly biopesticides to be worth promoting. This paper reviews recent research on the genomics of nuclear polyhedrosis virus, and summarizes the main functional genes including transcription related genes, DNA replication related genes, structure related genes and other genes. Further more, future development direction of the nuclear polyhedrosis virus is also prospected.

Key words: nuclear polyhedrosis virus; nucleopolyhedrovirus; genomics; biological control; research progress

近年来,随着人们环境保护意识的增强,对环境影响小并且能高效杀死害虫的生物农药越来越受到人们的青睐。特别是2008年以来,在北京奥运中深入人心的绿色概念被人们普遍接受和认可,加上政府对绿色农业和林业的大力度支持,使得研制新型生物农药成为各高校和研究机构研究的重要课题。

核型多角体病毒以昆虫为宿主,由于其专一性较高,对水体、土壤、天敌、人畜等无害,成为很具吸引力的新型生物农药,被列入农业部首批公布的《无公害农产品生产推荐使用农药品种名单》,具有广阔的市场前景。

昆虫病毒包括上千种,已报道的有1600多种,

收稿日期:2014-03-09

基金项目:广西林科院博士后专项资金项目(林科2013号);广西优良用材林资源培育重点实验室自主课题资助项目(13-A-04-01);广西林科院基金项目(林科201401号)

作者简介:罗 辑(1985—),男,湖南长沙人,博士后,主要从事森林病虫害研究。

* 通讯作者:教授,博士生导师,E-mail:gyzhou2118@163.com

分属 13 科 21 属^[1]。本文所探讨的核型多角体病毒属于杆状病毒科 (Rhabdoviridae) 核型多角体病毒属 (*Nucleopolyhedrovirus*)。该科病毒还包括颗粒体病毒属 (*Granulovirus*), 它们都主要寄生于节肢动物特别是昆虫体内, 是无脊椎动物病毒中最大的类群。核型多角体病毒的多角体颗粒在光学显微镜下为多种形态, 有三角形、四边形、五边形、六边形、多边形、圆形等, 但大多为五边形和六边形。核型多角体病毒直径一般为 0.5 ~ 15 μm , 而大多数在 0.6 ~ 2.5 μm 之间。其大小与所包含病毒粒子或者病毒束的数量具有一定的关系, 包含数量越多颗粒体一般会越大。

1 核型多角体病毒基因组

核型多角体病毒的核酸为双链环状 DNA, 大小一般在 80 ~ 180 kb 之间。随着科学技术的发展, 在人们已知的几百种核型多角体病毒中, 有 40 种已经进行了全基因组测序。它们的寄主范围主要是鳞翅目昆虫, 达到 10 科 26 属, 另外还包括双翅目蚊科 1 种以及膜翅目叶蜂科 3 种 (见表 1)。这些核型多角体病毒的全基因组测序为后续的深入分子生物学研究提供了一定的基础数据, 也为核型多角体病毒更好地应用奠定了基础。

表 1 已经获得全基因组序列的核型多角体病毒 (截至 2013 年)

寄主目	寄主科	核型多角体病毒名	基因组大小 (bp)	GeneBank	
鳞翅目	菜蛾科	<i>Plutella xylostella</i> multiple nucleopolyhedrovirus	134 417	NC_008349	
		蚕蛾科	<i>Bombyx mandarina</i> nucleopolyhedrovirus	126 770	NC_012672
		<i>Bombyx mori</i> nucleopolyhedrovirus	128 413	NC_001962	
	尺蛾科	<i>Apocheima cinerarium</i> nucleopolyhedrovirus	123 876	NC_018504	
		<i>Ectropis obliqua</i> nucleopolyhedrovirus	131 204	NC_008586	
	大蚕蛾科	<i>Antheraea pernyi</i> nucleopolyhedrovirus	126 629	NC_008035	
		<i>Hemileuca</i> sp. nucleopolyhedrovirus	140 633	NC_021923	
	灯蛾科	<i>Hyphantria cunea</i> nucleopolyhedrovirus	132 959	NC_007767	
	毒蛾科	<i>Euproctis pseudoconspersa</i> nucleopolyhedrovirus	141 291	NC_012639	
		<i>Lymantria dispar</i> multiple nucleopolyhedrovirus	161 046	NC_001973	
		<i>Lymantria xyliana</i> multiple nucleopolyhedrovirus	156 344	NC_013953	
		<i>Orgyia leucostigma</i> nucleopolyhedrovirus	156 179	NC_010276	
		<i>Orgyia pseudotsugata</i> multiple nucleopolyhedrovirus	131 995	NC_001875	
		卷蛾科	<i>Adoxophyes honmai</i> nucleopolyhedrovirus	113 220	NC_004690
			<i>Adoxophyes orana</i> nucleopolyhedrovirus	111 724	NC_011423
			<i>Choristoneura fumiferana</i> multiple nucleopolyhedrovirus	131 160	NC_005137
			<i>Choristoneura occidentalis</i> alphabaculovirus	128 446	NC_021925
			<i>Choristoneura rosaceana</i> alphabaculovirus	129 052	NC_021924
			<i>Epiphyas postvittana</i> nucleopolyhedrovirus	118 584	NC_003083
		螟蛾科	<i>Maruca vitrata</i> nucleopolyhedrovirus	111 953	NC_008725
		天蛾科	<i>Clanis bilineata</i> nucleopolyhedrovirus	135 454	NC_008293
		夜蛾科	<i>Agrotis ipsilon</i> multiple nucleopolyhedrovirus	155 122	NC_011345
			<i>Agrotis segetum</i> nucleopolyhedrovirus	147 544	NC_007921
	<i>Anticarsia gemmatalis</i> nucleopolyhedrovirus		132 239	NC_008520	
	<i>Autographa californica</i> multiple nucleopolyhedrovirus		133 894	NC_001623	
	<i>Chrysodeixis chalcites</i> nucleopolyhedrovirus		149 622	NC_007151	
	<i>Helicoverpa armigera</i> nucleopolyhedrovirus		130 759	NC_002654	
	<i>Helicoverpa zea</i> single nucleopolyhedrovirus		130 869	NC_003349	
	<i>Leucania separata</i> nucleopolyhedrovirus		168 041	NC_008348	
	<i>Mamestra configurata</i> nucleopolyhedrovirus A		155 060	NC_003529	
	<i>Mamestra configurata</i> nucleopolyhedrovirus B		158 482	NC_004117	
	<i>Rachiplusia ou</i> multiple nucleopolyhedrovirus		131 526	NC_004323	
	<i>Spodoptera exigua</i> multiple nucleopolyhedrovirus		135 611	NC_002169	
	<i>Spodoptera frugiperda</i> multiple nucleopolyhedrovirus	131 331	NC_009011		
	<i>Spodoptera litura</i> nucleopolyhedrovirus	139 342	NC_003102		
	<i>Thysanoplusia orichalcea</i> nucleopolyhedrovirus	132 978	NC_019945		
	<i>Trichoplusia ni</i> single nucleopolyhedrovirus	134 394	NC_007383		
	双翅目	蚊科	<i>Culex nigripalpus</i> nucleopolyhedrovirus	108 252	NC_003084
	膜翅目	叶蜂科	<i>Neodiprion abietis</i> nucleopolyhedrovirus	84 264	NC_008252
			<i>Neodiprion lecontei</i> nucleopolyhedrovirus	81 755	NC_005906
			<i>Neodiprion sertifer</i> nucleopolyhedrovirus	86 462	NC_005905

人们对苜蓿丫纹夜蛾核型多角体病毒(*Autographa californica* NPV, AcNPV)的基因表达情况研究得比较多,发现病毒侵染过程中基因表达可分为4个时期:极早期(immediate early)、早期(delayed early)、晚期(late)和极晚期(very late)^[2]。而根据病毒基因的功能可以将病毒基因大致分成几类:RNA 转录相关基因、DNA 复制相关基因、结构相关基因及其他基因。

2 RNA 转录相关基因

RNA 转录相关基因是很重要的一类基因,因为病毒侵染和增殖过程中所需的酶都要从病毒基因组中转录,而转录所需要的酶一方面来自宿主的转录酶,另一方面来自病毒基因组编码。与转录相关的酶中,最重要的是核型多角体病毒的 RNA 聚合酶。该酶由4个基因编码,*lef-8*就是编码病毒 RNA 聚合酶最大亚基的基因,编码另外3个亚基的基因分别为 *lef-4*、*lef-9*、*p47*^[3-4]。这4个基因在不同种类的核型多角体病毒中具有较高的保守性,尤其是 *lef-8* 和 *lef-9* 能够作为鉴定病毒种类的依据^[5]。而 *lef-4* 则是一个多功能的基因,其除了可编码 RNA 聚合酶的一个亚基外,还具有 RNA 三磷酸酶、GTP 结合与鸟苷酸转移酶、加帽酶的功能^[6-9]。此4个基因编码蛋白的相互关系也有了一定的研究,发现 LEF-8 和 LEF-9 以及 P47 和其他3个蛋白之间都具有相互作用;LEF-4 和 LEF-8 之间只有在 P47 蛋白存在的情况下才会有相互作用;LEF-4 和 LEF-9 之间有弱的相互作用^[4],这可能说明 P47 在这4个亚基中处于中心位置,与其他3个亚基均有关联,而 LEF-4 和 LEF-8 之间没有关联并且相距较远,LEF-4 和 LEF-9 之间虽然也没有关联但相距较近。

除了这4个基因,还有其他基因与病毒的转录有关。*ie1* 基因就是其中之一,其编码的蛋白 IE1 是核型多角体病毒转录调控的重要因子。IE1 是一个位点特异性的 DNA 结合蛋白,具有调控病毒基因表达和促进病毒基因组复制的双重功能^[10-11]。*lef-5* 基因也具有调控某些基因转录的作用,Su 等人用敲除 *lef-5* 基因的核型多角体病毒侵染宿主细胞系,发现部分晚期基因的表达受到了抑制^[12],这说明其与部分晚期基因的转录有着密切的关系。在 AcNPV 中,*Bm34* 的同源基因 *Ac43* 也有着类似的功能,是病毒晚期和极晚期基因表达的必需基因^[13]。*vlf-1* 则是极晚期转录时的必需基因,并且与整合酶和游离

酶具有序列同源性^[14],它的缺失对 *BmNPV* 的 DNA 复制起始没有明显的影响,但是可能会影响之后的病毒装配和侵染过程^[15]。因此其可能除了与病毒基因的转录相关,还有可能与病毒基因组和宿主基因组的整合和脱离相关。

3 DNA 复制相关基因

另一类对核型多角体病毒十分重要的基因是病毒 DNA 复制相关基因,这些基因直接关系到病毒的增殖。其中最重要也是研究的比较多的是 DNA 聚合酶基因(*dnapol*),它是病毒进行 DNA 复制时的核心基因。其为一个单体酶,分子量大约 110 KD,而且所有的核型多角体病毒自身都编码这个基因^[16]。核型多角体病毒的 DNA 聚合酶除了具有聚合酶的作用外,还具有核酸外切酶的活性,并且具有持续合成能力以及一定的链置换能力^[17-19]。Feng 等人在 2012 年对苜蓿丫纹夜蛾核型多角体病毒的研究发现,*dnapol* 基因一些地方的点突变能够增强病毒对某些药物的抗性,影响病毒的形态发生,但对病毒的复制影响有限^[20],这说明此基因还一定程度上与病毒的抗性以及病毒的形态发生相关。

像前面所提到的那样,IE1 除了病毒转录相关功能外,还具有 DNA 复制相关的功能。通过对 *ie1* 的结构分析,发现其具有一个依赖细胞周期蛋白的激酶磷酸化位点,如果该位点发生突变,病毒的 DNA 复制过程将受到影响。这说明磷酸化影响 IE1 对病毒 DNA 复制活性的开启^[10]。IE0 具有与 IE1 类似的功能,都是在病毒侵染早期与 DNA 复制等重要过程有密切关系的 DNA 结合蛋白,并且两者之间有着一定的相互作用^[11,21]。

还有一些基因与病毒的 DNA 复制有着一定的关联。LEF-3 作为一种 DNA 结合蛋白,能够结合单链 DNA,还具有一个重要的功能,即运送病毒 DNA 解旋酶进入宿主细胞核中^[22-23]。DNA 解旋酶基因 *helicase* 也是核型多角体病毒复制时的关键基因,其编码的解旋酶主要参与超螺旋化的病毒 DNA 的解旋过程,只有解旋的核酸才能进行复制,否则参与复制的其他酶将无法识别和结合到核酸上^[24]。DNA 解旋酶和 LEF-3 都具有种特异性,同一物种的 LEF-3 才能与同种的 DNA 解旋酶结合并运送到宿主细胞核中^[22]。*helicase* 基因除了具有 DNA 解旋酶的功能,还很大程度上与病毒的宿主范围有关^[25-27]。吴小锋等人^[28]将 AcNPV 的 *helicase* 基因全长及其前

后辅助序列克隆到载体上,与家蚕核型多角体病毒基因组 DNA 共转染家蚕 BmN 细胞系,最终得到了 AcNPV-BmNPV 融合型杂交重组病毒,其基因组中 *helicase* 基因中有一部分是与 AcNPV 的同源部分重组的,因此此重组病毒既可以侵染家蚕又可以侵染苜蓿丫纹夜蛾,从而扩大了其宿主范围。

4 结构相关基因

与核型多角体病毒形态结构相关的基因是一个比较大的类群,大致可以分成两类:第一类是病毒的结构蛋白基因,其编码的蛋白是病毒结构的组成成分;另一类是编码病毒装配过程中所需要的酶等各种蛋白的基因。

结构蛋白中首先要提到的就是多角体蛋白基因 (*polh*),从其命名上就可以看出,它是组成核型多角体病毒颗粒的主要成分,其能达到整个病毒颗粒的 95% 以上,并且其在极晚期的表达量可以达到细胞可溶性蛋白的 1/3 以上^[29]。而在基因工程改造后的核型多角体病毒中,*polh* 的表达量则可能随环境的改变而改变。Cheng 等人用 *fp25k* 基因突变的 AcNPV 侵染 3 种细胞系,发现 *polh* 大部分在 Sf21 细胞系中比在 Sf9 和 Hi5 细胞系中表达量高^[30]。还有研究发现在某些基因中插入部分 *polh* 的片段能大幅度提高这个基因的表达量,这也成为提高这些基因表达的一种可选方法^[31-33]。

由于核型多角体病毒的核酸是包裹在囊膜中,因此囊膜蛋白也是组成病毒结构的一个重要部分。囊膜蛋白是存在于囊膜上多种膜蛋白的统称,因此由不同基因编码不同的囊膜蛋白,而它们也具有不同的功能。例如家蚕核型多角体病毒 *Bm91* 及 *Bm51* 基因编码的囊膜蛋白不是病毒增殖的必须基因,但其与病毒侵染宿主的能力相关^[34-35],而家蚕 *Bm79* 基因则编码了病毒囊膜上的一个结构蛋白^[36]。相兴伟等人通过对家蚕核型多角体病毒囊膜蛋白 E25 和 E56 的表达和定位分析发现,其不仅在病毒粒子包涵入多角体的过程中起信号引导作用,并能引导外源目的蛋白进入多角体^[37-38]。在 AcNPV 中的研究发现其 *p74* 基因编码的囊膜蛋白在病毒与宿主中肠细胞的结合与融合过程中起重要作用^[39]。

在病毒装配过程中涉及到很多蛋白,但大部分都没有研究得特别清楚,仅仅知道其与病毒的装配有关,而具体在装配过程中起到什么作用还不是十

分确定。例如在棉铃虫核型多角体病毒中,38k 基因就与病毒核衣壳的组装有关^[40]。再比如 *p6.9* 基因编码的蛋白又称 DNA 结合蛋白,是一种富含精氨酸的碱性蛋白,其功能是与病毒基因组 DNA 结合呈微型核小体样结构,使基因组 DNA 高度浓缩后包装进核衣壳^[41]。

5 前景展望

在我国已经开发和应用的昆虫病毒种类中,85% 为核型多角体病毒,不到 15% 为质型多角体病毒和其它病毒^[42]。随着绿色生态概念的深入人心,昆虫病毒将具有更大的发展前景^[43]。它不但可作为基础研究中的一种重要的基因工程载体为研究宿主的功能基因提供方便,亦可作为一种新型的生物农药为农业和林业生产中的害虫防控提供新的选择。但由于其自身的特点也具有一定的局限性,这可能成为将来科研攻关和开发新制剂的发展方向。

首先,核型多角体病毒具有高特异性的特点,只能侵染特定的一种或者几种宿主,作为一种农药,它对生物环境相对安全,这是其一大优点。但一般农林害虫并不是单一发生的,往往是几种害虫同时或者轮流发生,这时生产上就需要能够同时杀灭这几种害虫的生物农药,而这恰恰是核型多角体病毒的短板。而在基础研究中由于并不是所有的核型多角体病毒都研究得比较透彻,因此对于研究较少的病毒由于基础信息的缺乏很难进行深入研究,但如果通过拓展其宿主域,在已经研究较多的宿主中进行基因操作,则能够更好的更深入的对其进行基因组学方面的研究。所以在今后的研究中,如何有针对性的扩大其宿主范围,达到科研工作中的需要是下一步需要努力的方向。

其次,其作为一种新型的生物农药,相对于普通农药最大的一个缺点就是起效时间比较长,如果在害虫的暴食期,一天所造成的损失就会成倍增长,因此起效时间越短则防控效果越好。而起效时间受很多因素的影响,一方面是环境因素,这需要在实际生产中慢慢摸索;另一方面则是由病毒自身的性状所决定,因此通过对病毒自身基因组学的深入研究,并对改变其遗传性状或者增加增效因子从而缩短其起效时间,是另一个有价值的研究方向。

参考文献:

- [1] Pringle C R. Virus taxonomy - 1999. The universal system of virus taxonomy, updated to include the new proposals ratified by the Inter-

- national Committee on Taxonomy of Viruses during 1998 [J]. Archives of Virology, 1999, 144(2): 421–429
- [2] Fujita R, Matsuyama T, Yamagishi J, *et al.* Expression of *Autographa californica* Multiple Nucleopolyhedrovirus Genes in Mammalian Cells and Upregulation of the Host β -Actin Gene [J]. Journal of Virology, 2006, 80(5): 2390–2395
- [3] Acharya A, Gopinathan K. Characterization of late gene expression factors *lef-9* and *lef-8* from *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus [J]. Journal of General Virology, 2002, 83(8): 2015–2023
- [4] Crouch E A, Cox L T, Morales K G, *et al.* Inter-subunit interactions of the *Autographa californica* M nucleopolyhedrovirus RNA polymerase [J]. Virology, 2007, 367(2): 265–274
- [5] Jose J, Jalali S K, Shivalingaswamy T M, *et al.* Molecular characterization of nucleopolyhedrovirus of three Lepidopteran pests using late expression factor-8 gene [J]. Indian Journal of Virology, 2013, 24(1): 59–65
- [6] Sehrawat S, Srinivasan N, Gopinathan K P. Functional characterization and structural modelling of late gene expression factor 4 from *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus [J]. Biochemical Journal, 2002, 368(1): 159–169
- [7] Guarino L A, Jin J, Dong W. Guanylyltransferase activity of the LEF-4 subunit of baculovirus RNA polymerase [J]. Journal of Virology, 1998, 72(12): 10003–10010
- [8] Jin J, Dong W, Guarino L A. The LEF-4 subunit of baculovirus RNA polymerase has RNA 5'-triphosphatase and ATPase activities [J]. Journal of Virology, 1998, 72(12): 10011–10019
- [9] Gross C H, Shuman S. RNA 5'-triphosphatase, nucleoside triphosphatase, and guanylyltransferase activities of baculovirus LEF-4 protein [J]. Journal of Virology, 1998, 72(12): 10020–10028
- [10] Taggart D J, Mitchell J K, Friesen P D. A conserved N-terminal domain mediates required DNA replication activities and phosphorylation of the transcriptional activator IE1 of *Autographa californica* multicapsid nucleopolyhedrovirus [J]. Journal of Virology, 2012, 86(12): 6575–6585
- [11] Schultz K, Wetter J, Fiore D, *et al.* Transactivator IE1 is required for baculovirus early replication events that trigger apoptosis in permissive and nonpermissive cells [J]. Journal of Virology, 2009, 83(1): 262–272
- [12] Su J, Lung O, Blissard G. The *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus *lef-5* gene is required for productive infection [J]. Virology, 2011, 416(1–2): 54–64
- [13] Katsuma S, Shimada T. *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus ORF34 is required for efficient transcription of late and very late genes [J]. Virology, 2009, 392(2): 230–237
- [14] Xiao H, Qi Y. Genome sequence of *Leucania seperata* nucleopolyhedrovirus [J]. Virus Genes, 2007, 35(3): 845–856
- [15] 杜超逸, 于 威, 全滢平, 等. 利用 Red 重组系统敲除家蚕核型多角体病毒的 *ulf-1* 基因及对病毒复制的影响 [J]. 蚕业科学, 2013, 39(2): 283–288
- [16] Liu L, Song H, Zhang L, *et al.* Expression, purification, and enzymatic characterization of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus DNA polymerase [J]. Archives of Virology, 2013, 158(12): 2453–2463
- [17] Hang X, Guarino L. Purification of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus DNA polymerase from infected insect cells [J]. Journal of General Virology, 1999, 80(9): 2519–2526
- [18] Mcdougal V, Guarino L. *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus DNA polymerase: Measurements of processivity and strand displacement [J]. Journal of Virology, 1999, 73(6): 4908–4918
- [19] Huang J H, Levin D B. Expression, purification and characterization of the *Spodoptera littoralis* nucleopolyhedrovirus (SpliNPV) DNA polymerase and interaction with the SpliNPV non-hr origin of DNA replication [J]. Journal of General Virology, 2001, 82: 1767–1776
- [20] Feng G, Thumbi D K, De Jong J, *et al.* Selection and characterization of *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus DNA polymerase mutations [J]. Journal of Virology, 2012, 86(24): 13576–13588
- [21] Nie Y, Fang M, Theilmann D. AcMNPV AC16 (DA26, BV/ODV-E26) regulates the levels of IE0 and IE1 and binds to both proteins via a domain located within the acidic transcriptional activation domain [J]. Virology, 2009, 385(2): 484–495
- [22] Wu Y, Carstens E B. A baculovirus single-stranded DNA binding protein, LEF-3, mediates the nuclear localization of the putative helicase P143 [J]. Virology, 1998, 247(1): 32–40
- [23] Yu M, Carstens E B. Identification of a domain of the baculovirus *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus single-strand DNA-binding protein LEF-3 essential for viral DNA replication [J]. Journal of Virology, 2010, 84(12): 6153–6162
- [24] 刘艳荷, 方继朝. 斜纹夜蛾核型多角体病毒 DNA 解旋酶序列比较分析 [J]. 江苏农业学报, 2013, 29(3): 496–501
- [25] Maeda S, Kamita S G, Kondo A. Host range expansion of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus (NPV) following recombination of a 0.6-kilobase-pair DNA fragment originating from *Bombyx mori* NPV [J]. Journal of Virology, 1993, 67(10): 6234–6238
- [26] Jin B, Yoon H, Choudary P, *et al.* Characterization of recombinant *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus (NPV) expressing the beta-galactosidase gene in both Sf21 and Bm5 cells by *Bombyx mori* NPV p143 helicase gene [J]. Molecules and Cells, 1997, 7(6): 762–768
- [27] Kamita S, Maeda S. Sequencing of the putative DNA helicase-encoding of the *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus and fine-mapping of a region involved in host range expansion [J]. Gene, 1997, 190(1): 173–179
- [28] 吴小锋, 曹翠平, 许雅香, 等. BmNPV 和 AcNPV 扩大寄主域杂交重组病毒表达载体的构建和改进术 [J]. 中国科学 C 辑: 生命科学, 2004, 34(2): 156–164
- [29] 刘子夜, 齐义鹏, 王家旺, 等. 多角体蛋白的结构多样性和杆状病毒的进化研究 [J]. 生物多样性, 1997, 5(1): 14–25
- [30] Cheng X H, Hillman C C, Zhang C X, *et al.* Reduction of polyhedrin mRNA and protein expression levels in Sf9 and Hi5 cell lines, but not in Sf21 cells, infected with *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus fp25k mutants [J]. Journal of Gener-

- al Virology, 2013, 94: 166 – 176
- [31] Bae S M, Kim H J, Lee J B, *et al.* Hyper-enhanced production of foreign recombinant protein by fusion with the partial polyhedrin of nucleopolyhedrovirus[J]. Plos One, 2013, 8(4)
- [32] Wu K, Feng J, Yao L, *et al.* Potential industrial production of foreign protein in silkworm using the collusion bodies of recombinant *Bombyx mori* (silkworm) multiple nucleopolyhedrovirus rescued by polyhedrin expressing stable cell line[J]. Journal of Chinese Biotechnology, 2010, 30(5): 96 – 102
- [33] Iizuka M, Tomita M, Shimizu K, *et al.* Translational enhancement of recombinant protein synthesis in transgenic silkworms by a 5'-untranslated region of polyhedrin gene of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2008, 105(6): 595 – 603
- [34] Tang Q, Li G, Yao Q, *et al.* Bm91 is an envelope component of ODV but is dispensable for the propagation of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2013, 113(1): 70 – 77
- [35] Tian C H, Tang X D, Xu H J, *et al.* *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus ORF51 encodes a budded virus envelope associated protein [J]. Virus Genes, 2009, 38(1): 171 – 177
- [36] Xu H J, Yang Z N, Wang F, *et al.* *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus ORF79 encodes a 28-kDa structural protein of the ODV envelope[J]. Archives of Virology, 2006, 151(4): 681 – 695
- [37] Xiang X, Chen L, Yu S, *et al.* Fusion expression of the *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus ODV envelope protein and immobilization of foreign protein into BmNPV polyhedra[J]. Acta Sericologica Sinica, 2010, 36(5): 785 – 791
- [38] Xiang X, Chen L, Guo A, *et al.* The *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus (BmNPV) ODV-E56 envelope protein is also a per os infectivity factor[J]. Virus Research, 2011, 155(1): 69 – 75
- [39] Zhou W K, Yao L G, Xu H, *et al.* The function of envelope protein P74 from *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus in primary infection to host[J]. Virus Genes, 2005, 30(2): 139 – 150
- [40] Tang P, Li Y, Qin Q, *et al.* Cloning, sequence analysis and protein tertiary structure prediction of 38k gene from *Helicoverpa armigera* multiple nuclear polyhedrosis virus[J]. Biotechnology Bulletin, 2009, (12): 65 – 67, 83
- [41] 费建明, 李 兵, 沈卫德. 蓖麻蚕核型多角体病毒 p6.9 基因的克隆及序列分析[J]. 蚕业科学, 2007, 33(4): 610 – 613
- [42] Moscardi F. Assessment of the application of baculoviruses of control of Lepidoptera[J]. Annual Review of Entomology, 1999, 44(1): 257 – 289
- [43] 罗基同, 赵庭坤, 杨秀好. 松毛虫工程治理技术[J]. 广西林业科学, 2005, 34(1): 26 – 31