



黄博, 朱梦瑶, 丘霏珊, 张若男, 张文庆, 余小强, 卢玉珍. 核型多角体病毒侵染及其与宿主免疫系统互动的研究进展 [J]. 环境昆虫学报, 2021, 43 (2): 329–339.

## 核型多角体病毒侵染及其与宿主免疫系统互动的研究进展

黄博<sup>1,3</sup>, 朱梦瑶<sup>1</sup>, 丘霏珊<sup>1</sup>, 张若男<sup>1</sup>, 张文庆<sup>2</sup>, 余小强<sup>1</sup>, 卢玉珍<sup>1\*</sup>

(1. 华南师范大学生命科学学院, 广东省昆虫发育生物学与应用技术重点实验室, 广州 510631;

2. 中山大学有害生物控制与资源利用国家重点实验室, 广州 510275; 3. 华中师范大学生命科学学院, 武汉 430079)

**摘要:** 核型多角体病毒 (Nucleopolyhedrovirus, NPV) 应用广泛, 已被开发成微生物杀虫剂和用于重组蛋白表达等。NPV 具有两种病毒颗粒: 包埋型病毒粒子 (occlusion-derived virus, ODV) 和芽生型病毒粒子 (budded virus, BV), 两者的构成和组装存在差异。病毒包涵体在肠道中溶解后释放出 ODV 进行初级感染, 子代核衣壳通过质膜出芽产生 BV 引发全身性的次级感染。病毒感染昆虫后能引发宿主的免疫反应, 同时 NPV 病毒已进化出多种策略抑制或逃避宿主的免疫反应, 如免疫信号通路、黑化和凋亡等过程。本文将总结鳞翅目特异性 NPV 与宿主的互动研究, 着重介绍 NPV 的侵染机制、NPV 与宿主免疫系统互动的研究进展。

**关键词:** 核型多角体病毒; 杆状病毒; 包埋型病毒粒子; 芽生型病毒粒子; 先天免疫

中图分类号: Q965; S476

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2021) 02-0329-11

### Advance in the research of nucleopolyhedrovirus infection and its interaction with host immune system

HUANG Bo<sup>1,3</sup>, ZHU Meng-Yao<sup>1</sup>, QIU Pei-Shan<sup>1</sup>, ZHANG Ruo-Nan<sup>1</sup>, ZHANG Wen-Qing<sup>2</sup>, YU Xiao-Qiang<sup>1</sup>, LU Yu-Zhen<sup>1\*</sup> (1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Insect Developmental Biology and Applied Technology, School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China; 2. State Key Laboratory of Biocontrol, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China; 3. School of Life Sciences, Central China Normal University, Wuhan 430079, China)

**Abstract:** Nucleopolyhedrovirus (NPV) has been widely used as a biological control agent and an expression system for recombinant proteins. There are two virion phenotypes, occlusion-derived virus (ODV) and the budded virus (BV), that are distinct in the composition and assembly during the infection cycle. The primary infection occurs when occlusion bodies (OBs) are disassembled to release ODV virions into lumen of the midgut. The progeny nucleocapsids are transported to the plasma membrane to generate BV phenotype. The BV virions may infect other tissues and cause secondary phase of infection. Insects possess efficient innate immune defenses to viral infection, whereas NPV has evolved various strategies to suppress or avoid host immune responses. The interaction processes between NPV and host immune system include immune signaling pathway, melanization and apoptosis. In this paper, we summarize recent studies on the interactions between Lepidopteran-specific nucleopolyhedrovirus and their

基金项目: 国家自然科学基金 (31901941); 国家重点研发计划 (2019YFD1002100); 中山大学有害生物控制与资源利用国家重点实验室开放课题 (2018SKLBC-KF03)

作者简介: 黄博, 男, 1994年生, 湖北省黄冈市人, 硕士生, 研究方向为昆虫与病原菌的免疫互动, E-mail: 1312041465@qq.com

\* 通讯作者 Author for correspondence: 卢玉珍, 女, 博士, 副研究员, 主要研究昆虫病原微生物, E-mail: luyuzhen2015@outlook.com

收稿日期 Received: 2020-08-19; 接受日期 Accepted: 2020-12-22

insect hosts, mainly focus on the mechanisms of infection, and the interaction between NPV and host immune system.

**Key words:** Nucleopolyhedrovirus; baculovirus; occlusion-derived virus; budded virus; innate immunity

杆状病毒 (baculovirus) 是具有囊膜包裹的双链环状 DNA 病毒, 基因组大小为 80 ~ 180 kb, 只专一性感染昆虫, 主要以鳞翅目、双翅目和膜翅目昆虫为宿主 (Lange *et al.*, 2004; Harrison *et al.*, 2018)。杆状病毒包括核型多角体病毒 (nucleopolyhedrovirus, NPV) 和颗粒体病毒 (granulovirus, GV), 其中 NPV 能在细胞核内形成截面约为 0.6 ~ 2  $\mu\text{m}$  的多面型包涵体 (occlusion body, OB), 又名多角体 (polyhedron)。杆状病毒在感染周期可以产生两种物理形态和结构不同的病毒粒子: 包埋型病毒粒子 (occlusion-derived virus, ODV) 和芽生型病毒粒子 (budded virus, BV)。环境中的 NPV 病毒以包涵体/多角体的形式存在, ODV 包埋于包涵体蛋白晶体中。包涵体内包埋多个 ODV, 一个 ODV 囊膜中存在单个或多个核衣壳, 如家蚕核多角体病毒 *Bombyx mori nucleopolyhedrovirus* (BmNPV) 属于单粒包埋核多角体病毒, 苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒 *Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus* (AcMNPV) 属于多粒包埋核多角体病毒。包涵体在自然环境中非常稳定, 可以长期保护 ODV 的活性。

目前已有 100 多种杆状病毒完成基因组测序, 基于进化树、宿主以及病毒粒子包埋等信息, 可将 NPV 划分为四个属:  $\alpha$ -杆状病毒属 (鳞翅目特异 NPVs)、 $\beta$ -杆状病毒属 (鳞翅目特异 GVs)、 $\gamma$ -杆状病毒属 (膜翅目特异 NPVs) 和  $\delta$ -杆状病毒属 (双翅目特异 NPVs) (Jehle *et al.*, 2006; Williams *et al.*, 2017)。其中,  $\alpha$ -杆状病毒的研究最为透彻, 包括 AcMNPV、BmNPV、黄杉毒蛾核多角体病毒 *Orgyia pseudotsugata multiple nucleopolyhedrovirus* (OpMNPV)、甜菜夜蛾核型多角体病毒 *Spodoptera exigua multiple nucleopolyhedrovirus* (SeMNPV) 和棉铃虫核型多角体病毒 *Helicoverpa armigera single nucleopolyhedrovirus* (HaSNPV) 等。根据 BV 病毒粒子囊膜上的膜融合蛋白差异,  $\alpha$ -杆状病毒可分为两个类群: 利用 glycoprotein 64 (GP64) 作为 BV 膜融合蛋白的 Group I NPVs, 包括 AcMNPV、BmNPV 等; 以 F 蛋白 (fusion protein) 为膜融合蛋白的 Group II NPVs, 包括 SeMNPV、HaSNPV

等。本文将重点介绍鳞翅目昆虫与核型多角体病毒的互作研究。

## 1 核型多角体病毒生活史

当昆虫取食被包涵体污染的食物后, 包涵体进入中肠并在碱性的肠道中被蛋白酶溶解, 释放出 ODV (图 1)。ODV 穿过中肠围食膜, 其囊膜与中肠上皮细胞微绒毛膜融合之后, 核衣壳侵入中肠柱状上皮细胞, 形成初级感染 (primary infection)。随后, 部分病毒核衣壳可以直接从中肠上皮细胞的基底膜上出芽释放, 快速形成少量的 BV; 另一部分核衣壳则进入细胞核并解聚释放病毒基因组, 调控病毒基因的表达、病毒基因组 DNA 的复制和结构蛋白合成。子代核衣壳在病毒发生基质 (virogenic stroma, VS) 中形成后通过核膜出芽进入细胞质, 而后脱去从核膜获得的包膜, 并通过被病毒编码的糖蛋白修饰的质膜出芽, 获得囊膜并形成 BV (图 2) (Blissard and Theilmann, 2018)。释放出的 BV 穿过肠道基膜 (basal lamina) 进入血淋巴系统迅速扩散感染全身的组织细胞, 也可以直接感染某些类型的细胞 (如气管细胞、血细胞), 从而引发次级感染 (secondary infection) (图 1)。BV 通过胞吞作用进入细胞质, 在晚期内吞体的酸性环境下, BV 囊膜蛋白发挥膜融合作用, 释放核衣壳到细胞质中。肌动蛋白多聚体可推进核衣壳的运输和穿过核孔, 释放病毒基因组开始新一轮的复制。次级感染过程中产生的新的 BV 能在虫体内部的细胞和组织间传播扩散。而在病毒感染的晚期, BV 的生成减少, 大量的病毒核衣壳被包装成 ODV, 并被多角体蛋白包埋, 多角体蛋白聚合结晶形成包涵体。随着感染进入到极晚期, 被感染的宿主细胞膜裂解, 虫体液化 (Donly *et al.*, 2014)。杆状病毒编码的几丁质酶 ( $v\text{-chiA}$ ) 和组织蛋白酶 ( $v\text{-cath}$ ) 能降解昆虫的外骨骼, 使得包涵体释放到环境中 (Hawtin *et al.*, 1997)。

虽然 ODV 和 BV 的基因组相同, 核衣壳的结构和组成上基本相似, 但是囊膜有很大差别, 导致其在病毒侵染过程中的功能显著不同 (Blissard

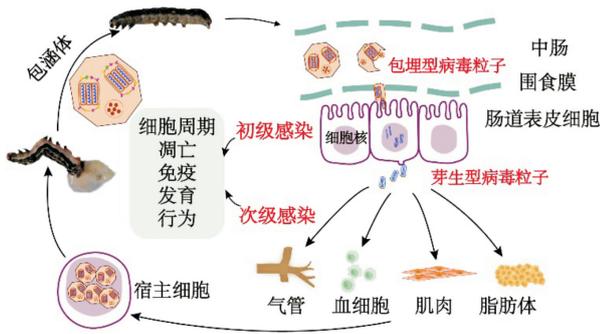


图1 核型多角体病毒的侵染周期

Fig. 1 The infection cycle of nucleopolyhedrovirus

and Theilmann, 2018)。BV 从宿主细胞中出芽产生, 其单层囊膜来源于被病毒蛋白修饰的细胞质膜; ODV 在细胞核内组装, 其多层囊膜来源于被修饰的细胞核膜 (Fei *et al.*, 2018)。ODV 和 BV 的核衣壳和囊膜上存在特异性和共有的蛋白, 如 PTP (protein tyrosine phosphatase)、BRO (baculovirus repeated ORFs) 等蛋白是 AcMNPV 的 BV 核衣壳特异性蛋白, GP64、v-UBI (viral-ubiquitin) 等是 BV 囊膜特异性蛋白, P33、Ac5 等是 ODV 核衣壳特异性蛋白, PIF、ODV-E66 等是 ODV 囊膜特异性蛋白, P78/83、Ac58、VP39 等是 ODV 和 BV 共有的核衣壳蛋白, ODV-E25、ODV-E18 是共有的囊膜蛋白。

BV 和 ODV 囊膜脂质组成也有很大的不同, 如 AcMNPV 感染草地贪夜蛾 Sf9 细胞后产生的 BV 囊膜磷脂约含有 50% 磷脂酰丝氨酸、13% 鞘磷脂、12% 磷脂酰肌醇、11% 磷脂酰胆碱、8% 磷脂酰乙醇胺以及 6% 溶血卵磷脂 (Braunagel and Summers, 1994; Faulkner *et al.*, 1997), 而 AcMNPV 的 ODV 囊膜脂质大约由 39% 磷脂酰胆碱、30% 磷脂酰乙醇胺、20% 磷脂酰丝氨酸以及少量的溶血卵磷脂组成。脂质组分的差异可能在 ODV 和 BV 侵染宿主细胞以及组装和出芽中有着重要作用。

## 2 核型多角体病毒侵染特征

### 2.1 包涵体溶解与 ODV 释放

包涵体/多角体蛋白 (polyhedrin) 是包涵体/多角体的主要蛋白, 其三聚体通过二硫键相连形成结晶并将 ODV 包埋 (Ji *et al.*, 2010)。多角体蛋白的 N-末端区域含有约 40 个残基的无序氨基酸序列, 可能参与 ODV 病毒颗粒与多角体晶体的互

作。包涵体表面由糖类和蛋白质所组成的光滑无缝的多角体膜 (polyhedron envelope, PE) 包裹, 用于密封表面和提高多角体的稳定性。鳞翅目特异性的 NPVs 都含有 PE 蛋白 (Ac131), PE 蛋白和 P10 纤维化结构有关, 而 P10 蛋白参与多角体膜的组装 (Vlak *et al.*, 1988; Whitt and Manning, 1988)。包涵体表面的蛋白酶可能来源于虫体、细菌和病毒的混合物, 可被热失活。在昆虫肠道碱性肠液的刺激下, 包涵体迅速被肠道或多角体上的蛋白酶溶解, 其中早期被破坏的就是连接三聚体的二硫键 (Wang and Granados, 2000; Peng *et al.*, 2011)。破坏肠道的围食膜能降低杆状病毒的半致死剂量, 表明围食膜是抵御 ODV 病毒侵染的物理屏障 (Wang and Granados, 2000)。一些  $\alpha$ -杆状病毒和  $\beta$ -杆状病毒的包涵体含有一种叫做增强子素 (enhancins) 的金属蛋白酶, enhancins 能消化围食膜组分粘蛋白, 破坏围食膜从而提高病毒感染效率 (Toprak *et al.*, 2012)。AcMNPV 编码 ODV-E66 (Ac46) 降解围食膜上的硫酸软骨素从而增强初级感染 (Sugiura *et al.*, 2013)。ODV 囊膜上 *ac145* 和 *ac150* 编码的几丁质结合蛋白也可能参与肠道感染 (Dall *et al.*, 2001)。

### 2.2 ODV 与中肠细胞

ODV 对昆虫上皮细胞的识别有很高的特异性, ODV 病毒颗粒首先和微绒毛膜直接接触并融合进入中肠上皮细胞 (Granados and Lawler, 1981)。目前的实验结果显示, ODV 囊膜表面的病毒口服感染因子 (*per os* infectivity factors, PIFs) 复合物介导 ODV 与微绒毛膜的结合和融合 (Gencer *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2019)。PIF 复合物包括 9 种组分, P74 (Ac138/PIF0) 最早被发现, 敲除 *p74* 基因不会影响 BV 的产生, 却使 ODV 口服感染能力丧失 (Kuzio *et al.*, 1989; Haas-Stapleton *et al.*, 2004)。之后发现了 9 种 PIFs, 分别命名为 PIF1 到 PIF9, 除了 PIF5 外, 其他 PIFs 都参与 PIF 复合物的组装。其中 PIF1、2 和 3 是核心成分, 可以形成约 230 kDa 的核心复合物。PIF0、4、6、7 和 9 依赖 PIF1-3 核心复合物而聚集形成约 400 kDa 的蛋白复合物, 最终 PIF8 加入后形成完整的 PIF 复合物 (Wang *et al.*, 2019)。

AcMNPV 的 ODV 与中肠微绒毛细胞融合后, 释放出 ODV 的核衣壳 (Granados and Lawler, 1981)。中肠微绒毛细胞靠近肠腔侧含有很多交联的肌动蛋白丝, 间接的证据表明肌动蛋白丝与

ODV 核衣壳的入核有关 (Ohkawa *et al.*, 2010)。除了入核, 核衣壳也能绕过细胞核直接穿过肠道表皮细胞到达微绒毛细胞下的基膜, 随后直接进入血淋巴 (Granados and Lawler, 1981; Hofmann *et al.*, 1995)。BV 在病毒感染 1~2 h 后就会出现在基膜附近 (Granados and Lawler, 1981), 表明同时入核的基因组编码了早期基因参与到病毒对肠道细胞的快速穿过, 从而逃避细胞和肠道免疫。

### 2.3 BV 感染宿主细胞

GP64 是 AcMNPV 的 BV 粒子的主要囊膜蛋白, 属于第三类病毒膜融合蛋白, 其同源基因存在于所有的 Group I NPVs 中。GP64 单体通过二硫键相互连接形成三聚体融合蛋白复合物, 参与受体结合 (Falanga *et al.*, 2012)。当 BV 感染细胞时, 病毒通过 GP64 与细胞膜表面的潜在受体结合而吸附在细胞表面。随后 BV 通过网格蛋白 (clathrin) 介导的内吞途径进入中肠上皮细胞以外的其它组织细胞或离体培养的细胞 (Long *et al.*, 2006)。F 蛋白广泛分布于杆状病毒中, 是  $\alpha$ -杆状病毒属 Group II NPVs 囊膜的主要糖蛋白,  $\beta$ -杆状病毒属和  $\delta$ -杆状病毒属的 BV 囊膜的主要糖蛋白, 敲除 Group II 杆状病毒的 F 蛋白导致 BV 无法产生 (Wang *et al.*, 2008)。F 蛋白能替代 GP64 并在 GP64 缺失的 AcMNPV 中发挥作用, 但是两者的三级结构和构象变化存在较大差异 (Lung *et al.*, 2002)。虽然 Group I NPVs 也含有 F 蛋白 (称为 F-like 蛋白), 如 AcMNPV 中的 Ac23, 但是该蛋白含量低。AcMNPV 的 Ac23 不是 BV 病毒的复制和感染所必须的, 但会影响到 ODV 的囊膜化和致病活力 (Lung *et al.*, 2003)。结合进化关系和功能实验显示, Group I 杆状病毒获得 GP64 之后, F 蛋白的功能可能就被取代。

AcMNPV 的 BV 囊膜上还含有其他低丰度的蛋白, 如 v-UBI (Ac35)、GP37 (Ac64)、ODV-E25 (Ac94)、ODV-E18 (Ac143) 和 BV/ODV-E26 (Ac16) 等 (Deng *et al.*, 2007)。ODV-E25 (Ac94) 和 ODV-E18 (Ac143) 对于感染性 BV 的产生非常重要, v-UBI、GP37 和 BV/ODV-E26 蛋白虽然能影响 BV 的数量, 但是并非 BV 的感染和增殖所必须的 (Volkman *et al.*, 1984; Volkman and Goldsmith, 1985; Pearson *et al.*, 2001)。

BV 病毒颗粒内吞体的形成和转运与宿主细胞内吞分选转运复合体 (the endosomal sorting complex required for transport, ESCRT) 及可溶性 N-

乙基马来酰亚胺敏感因子附着蛋白受体 (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptors, SNARE) 系统有关 (Votteler and Sundquist, 2013)。病毒颗粒被内吞之后, 在内吞体膜上质子泵的作用下, 内吞体酸化, GP64 的构象发生改变进而诱导病毒囊膜与内吞体膜或内吞体内的囊泡膜融合, 从而释放核衣壳到细胞质中 (Backovic and Jardetzky, 2011; Dong and Blissard, 2012)。BV 感染后能诱导细胞核周围的肌动蛋白骨架发生聚合, 病毒非必须基因 *arif-1* 参与了肌动蛋白的定位。病毒的 P78/83 (Ac9) 定位于核衣壳末端, 通过招募成核剂 Arp2/3 复合物促进肌动蛋白聚合, 推进病毒核衣壳穿过核孔复合体进入细胞核 (Mueller *et al.*, 2014)。随着细胞核内病毒基因的表达和 DNA 的复制, 子代核衣壳在病毒发生基质 VS 中组装后被运输到环带区域, 该运输过程依赖于核内 F-肌动蛋白的聚合以及核衣壳蛋白 VP80 (Ac104)、P78/83 (Ac9)、VP1054 (Ac54) 和 BV/ODV-C42 (Ac101) 的参与 (Marek *et al.*, 2011; Guan *et al.*, 2016)。

### 2.4 BV 从宿主细胞中释放

AcMNPV 在核内组装好的一部分核衣壳会从核膜出芽用于产生 BV, 另一部分核衣壳仍然留在细胞核内用于 ODV 的组装 (图 2)。决定核衣壳从核膜出芽还是留在细胞核的机制尚不清楚, 可能受 BV 或 ODV 的核衣壳特异性蛋白的调控 (Braunagel *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2015)。BV 核衣壳的泛素化修饰多于 ODV 核衣壳, 泛素化可作为核衣壳出核的标记并参与出核过程的调控 (Biswas *et al.*, 2018)。核衣壳通过细胞核膜上由病毒和宿主蛋白构成的蛋白复合物出核, 核衣壳出核后被包裹在核膜形成的运输泡中。微管可能参与运输泡在细胞质中的运输, SNARE 蛋白也参与运输泡的产生或核衣壳从运输泡中释放 (Guo *et al.*, 2017), 释放后的核衣壳借助肌动蛋白聚合或微管被运输到细胞质膜 (Ohkawa *et al.*, 2010; Danquah *et al.*, 2012)。ESCRT 也介导了核衣壳从核膜或细胞质膜的出芽释放过程 (Yue *et al.*, 2018)。大量的病毒膜融合蛋白 (GP64 或 F 蛋白) 在细胞质中合成并被转运至细胞质膜, 核衣壳通过病毒膜融合蛋白区域的细胞质膜包裹而出芽形成子代 BV。AcMNPV 囊膜 GP64 融合蛋白极大地决定了 BV 的组装效率 (Oomens and Blissard, 1999)。

## 2.5 ODV 的组装

在病毒复制的晚期,大量组装的核衣壳滞留于细胞核内并被内核膜(inner nuclear membrane, INM)内陷产生的核内微囊泡包裹形成 ODV (图2)。ODV 的组装是复杂的,涉及到 ODV 膜蛋白向宿主细胞核的转运、核内膜的形成、核衣壳的装配及其与核内膜的结合、核内膜对核衣壳的包裹,最终包涵体蛋白晶体将单个或多个 ODV 包裹,形成包涵体(Shi *et al.*, 2015; Qin *et al.*, 2019)。ODV 囊膜蛋白在核内表达后转移到细胞质中加工成熟后入核,定位在细胞核内膜,诱导微囊泡形成。微囊泡在细胞核膜处形成后脱离,Ac76、Ac75 和 Ac93 参与了该过程,这三个蛋白也参与了核衣壳出核和 BV 的形成(Yuan *et al.*, 2011; Wei *et al.*, 2014)。随着核衣壳与核内病毒膜的互作,核衣壳聚集,其末端与微囊泡关联,微囊泡变长,其内的核衣壳平行排列(Shi *et al.*, 2015)。病毒极晚期基因高表达,产生大量包涵体蛋白和 P10 蛋白参与包涵体的形成。

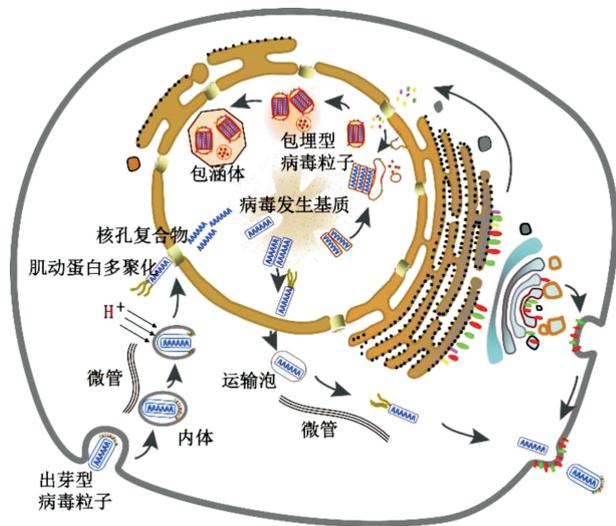


图2 芽生型病毒粒子侵染非中肠细胞

Fig. 2 The infection process of budded virus in nonmidgut host cells

## 3 NPV 与昆虫免疫

昆虫虽然缺乏获得性免疫,但在长期进化过程中形成了一套较为完善的先天免疫系统,抵御病原体(包括病毒)的入侵。昆虫的免疫系统可分为体液免疫和细胞免疫。体液免疫主要通过 Toll-Spätzle、IMD (immune deficiency)、JAK-STAT (janus kinase/signal transducer and activator of

transcription) 等信号通路上调抗菌肽、活性氧和溶菌酶等效应分子(effectors)的表达,杀灭病原体;而 RNAi 是昆虫体内重要的抗病毒机制(Voinnet, 2005)。细胞免疫主要通过血细胞参与吞噬、包囊和节结形成等过程清除异物(Lemaitre and Hoffmann, 2007)。酚氧化酶(phenoloxidase, PO)属于体液蛋白,激活后引发黑化反应以杀灭病原体,能同时激活体液免疫和细胞免疫(Lu *et al.*, 2014; Yi *et al.*, 2014)。此外,细胞凋亡、活性氧(reactive oxygen species, ROS)系统在昆虫免疫中也发挥功能。

### 3.1 NPV 侵染与免疫信号通路

昆虫识别病原微生物后将免疫信号转到细胞内级联放大,诱导产生效应因子,如抗菌肽(Lu *et al.*, 2018)。抗性和易感品系的家蚕感染 BmNPV 后,抗菌肽 Gloverin 在抗性品系中的表达显著高于易感品系,表明被病毒侵染的抗性品系的免疫反应被显著激活(Bao *et al.*, 2010)。在 AcMNPV 感染的细胞中添加 Gloverin 能降低 BV 的产量(Moreno-Habel *et al.*, 2012)。但是,也有报道显示 AcMNPV 感染的幼虫中,抗菌肽 Gloverin 和 Attactin 的表达是下调的(Choi *et al.*, 2012),可能跟侵染的时期和对象有关。JAK/STAT 通路调控细胞增殖、分化、凋亡和免疫, JAK/STAT 通路的关键蛋白 STAT 被激活后从细胞质转移到细胞核内调控基因表达。饲喂 BmNPV 后的家蚕血细胞中 BmSTAT 的表达量上调,而 Toll 受体的配体 Spätzle-1 的表达量并没有显著升高(Liu *et al.*, 2015)。降低 BmSTAT 的表达量导致细胞对 BmNPV 的抗性下降,增加 BmSTAT 的表达量后细胞对 NPV 的抗性也增加,表明 JAK/STAT 通路可能参与了抗病毒防御(Zhang *et al.*, 2016)。感染 BmNPV 后, Toll 家族受体在抗性品系的家蚕中肠中表达高于易感品系(Zhou *et al.*, 2013)。AcMNPV 会通过 TLR9 (toll-like receptor 9) 激活小鼠的先天免疫(Abe *et al.*, 2005)。唾液酸结合免疫球蛋白样凝集素(sialic acid binding immunoglobulin-like lectin, Siglec)作为 I 型膜蛋白,能参与识别流感病毒和触发病毒的内吞(Shinya *et al.*, 2006; Crocker *et al.*, 2007), Siglec 通过 TLR 信号通路来调节免疫反应(Paulson *et al.*, 2012)。Siglec 在家蚕抗性品系的中肠中被 BmNPV 上调, Siglec 和 Toll 在 NPV 感染过程中的功能有待后续研究进一步验证。

RNAi (RNA interfering) 作为一种先天的抵抗病毒感染的防御机制广泛存在于植物、线虫和动物中 (Ding, 2010)。RNAi 是利用非编码小 RNA 分子切割靶标 mRNA 抑制基因表达。果蝇的 micro RNA (miRNA) 和 small interfering RNA (siRNA) 分别被 Ago1 (argonaute proteins 1) 和 Ago2 (argonaute proteins 2) 识别后, 被加载到 RNA 诱导的沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC), 剪切或抑制靶标基因 (Ding, 2010)。此外, Piwi-RNA (piwi-interacting RNA, piRNA) 通路可在 siRNA 途径缺陷的条件下进行抗病毒免疫 (Ding, 2010)。这三种 RNAi 通路中, siRNA 通路是果蝇的主要抗病毒通路。感染 HaSNPV 的棉铃虫中能检测到大约 20 nt 的来源于病毒的小核酸片段, 沉默 *Dicer-2* 后细胞中对应的病毒转录本增加, 表明病毒的转录本通过宿主的 RNAi 途径被降解 (Jayachandran *et al.*, 2012)。虽然 RNAi 是有效的抗病毒途径, 但是病毒能编码不同的 RNAi 抑制蛋白 (viral suppressors of RNA silencing, VSRs) 以逃避宿主免疫。如 DNA 病毒 IIV6 的 340R 能结合 dsRNA 和 siRNA 抑制其被 Ago2 剪切, 敲除 340R 的病毒毒力显著减弱 (Bronkhorst *et al.*, 2019)。研究表明感染了 BmNPV、家蚕质型多角体病毒 *B. mori* cytoplasmic polyhedrosis virus (BmCPV) 和家蚕二分浓核病毒 *B. mori* bidensovirus (BmBDV) 的家蚕中, *Dicer-2* 并没有被激活, 表明 RNAi 通路没有被激活, 具体机制有待后续研究 (Liu *et al.*, 2015)。

### 3.2 昆虫血淋巴与 NPV 的免疫互作

酚氧化酶是黑色素合成的关键酶, 可以响应病原的侵染产生具有细胞毒性的氧自由基和潜在毒性的半醌和三羟酚。当模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 识别病原物后, 可触发丝氨酸蛋白酶级联途径, 剪切酚氧化酶原 (prophenoloxidase, PPO) 形成有活性的酚氧化酶。丝氨酸蛋白酶抑制剂 Serpins 通过反应中心环插入到蛋白酶的活性区域, 从而导致蛋白质的构象变化而失活 (Huntington, 2011)。对 AcMNPV 有抗性的美洲棉铃虫中, 血细胞中的病毒滴度低, 黑化和包裹反应能抑制病毒感染的感染 (Trudeau *et al.*, 2001)。酚氧化酶原 2s (prophenoloxidase 2s) 和磷脂酶 A2 (phospholipase A2) 通过释放溶血磷脂也能激活酚氧化酶原系统, 抗病毒的家蚕血淋巴中这两个基因在 BmNPV 感染后显著上调表达 (Bao

and Lv *et al.*, 2010), 表明酚氧化酶原系统参与宿主对 NPV 的抵抗。为了成功侵染宿主, NPV 进化出不同的策略抑制宿主的黑化反应。*Hemileuca* sp. NPV 的 *hesp018* 基因编码丝氨酸蛋白酶抑制剂, 能抑制酚氧化酶的活性 (Ardisson-Araújo *et al.*, 2015)。棉铃虫 NPV 病毒则能上调宿主的丝氨酸蛋白酶抑制剂 (serpin5/9) 抑制 PPO 的激活 (Yuan *et al.*, 2017)。AcMNPV 的 *conotoxin-like* (*ctx*) 基因能抑制血淋巴的黑化 (Cao *et al.*, 2012)。

### 3.3 NPV 和宿主凋亡的发生

细胞凋亡是一种由基因控制下的程序性死亡, 由多种凋亡因子诱导而发生, 在机体发育、组织稳态平衡以及免疫中发挥着重要作用 (Ikeda *et al.*, 2013)。NPV 感染昆虫初期, 细胞凋亡被激活以抑制病毒复制和扩增; 而在昆虫感染后期, 病毒则会抑制宿主的凋亡以促进病毒扩增 (Roulston *et al.*, 1999; Ikeda *et al.*, 2013)。多种 NPV (如 BmNPV, SeMNPV, OpMNPV) 感染舞毒蛾 Ld652Y 细胞均会诱导凋亡 (Ishikawa *et al.*, 2003), 感染 AcMNPV 会诱导 *Sl-zsu-1* 细胞凋亡 (Zhang *et al.*, 2002)。在没有病毒 DNA 复制时, 受斜纹夜蛾核型多角体病毒 *Spodoptera litura* multiple nucleopolyhedrovirus (SplMNPV) 和大豆夜蛾核型多角体病毒 *Anticarsia gemmatialis* multiple nucleopolyhedrovirus (AgMNPV) 感染的家蚕 Bm-5 细胞会引发凋亡 (Ishikawa *et al.*, 2003), 这些结果表明杆状病毒通过多种机制诱导昆虫细胞的凋亡。

随着病毒的进化, 病毒拥有不同的策略可以抑制宿主细胞凋亡, 促使自身得以继续增殖。目前在杆状病毒基因组已发现有 3 种凋亡抑制机制: p35 类凋亡抑制剂、凋亡抑制蛋白 (inhibitor of apoptosis, iap) 和凋亡抑制因子 (apoptotic suppressor, apsup) (Huang *et al.*, 2019)。Caspase 半胱氨酸酶是诱导凋亡发生的关键组分, 其中起始 caspase 能剪切自激活, 引起 caspase 级联反应, 效应 caspase 可直接降解胞内蛋白, 引起凋亡 (Denton and Kumar, 2015)。AcMNPV 的 p35 蛋白能直接抑制效应 caspase 大亚基的剪切从而避免 caspase 被激活, 阻断凋亡的发生 (LaCount *et al.*, 2000)。海灰翅夜蛾核型多角体病毒 *Spodoptera littoralis* nucleopolyhedrovirus (SpliNPV)、粘虫核型多角体病毒 *Leucania separata* multiple nucleopolyhedrovirus (LsNPV) 和 SplMNPV 含有

p35 的同源基因 p49, p49 蛋白能抑制效应 caspase 和水解起始 caspase (Lin *et al.*, 2010)。与细胞编码的 IAPs 相比, 病毒编码的 IAPs 缺少 N 端不稳定基序, OpMNPV 的 Op-IAP 也能抑制 caspase 的激活。Caspase 大小两个亚基间的 TETE-G 位点被剪切后能激活 caspase, Op-IAP 能阻塞剪切位点从而抑制凋亡 (Lamkanfi and Dixit, 2010)。被舞毒蛾核型多角体病毒 *Lymantria dispar* multiple nucleopolyhedrovirus (LdMNPV) 感染的 Ld652Y 细胞中病毒基因 *apsup* 在早期表达, 能抑制由 p35 缺失的 AcMNPV 诱导的凋亡 (Yamada *et al.*, 2011)。Ld652Y 细胞中 *apsup* 能阻止 Ld-Dronc (caspase) 的蛋白酶解过程和失活 caspase-3-like 蛋白酶, 从而抑制凋亡发生 (Yamada *et al.*, 2013)。

#### 4 NPV 与宿主的其他互作过程

杆状病毒的感染会改变宿主的细胞周期, 创造适合病毒扩散的条件。杆状病毒在侵染过程中能阻碍宿主的细胞周期但不影响 DNA 的复制, 从而促进病毒扩增。AcMNPV 的转录活化因子 ie2 在感染草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* Sf 细胞早期表达, 参与阻止细胞有丝分裂的进行。AcMNPV 病毒对细胞周期的阻滞取决于侵染时细胞所处的周期状态 (Prikhod'ko and Miller, 1998; Mainz *et al.*, 2002; Tung *et al.*, 2016)。HaSNPV 和 BmNPV 分别感染棉铃虫和家蚕细胞系后, 导致细胞有丝分裂停留在 G2/M 期 (Zhang *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2004)。

鳞翅目昆虫的变态发育受保幼激素和蜕皮激素的调控, 蜕皮激素由昆虫的前胸腺分泌, 能促使幼虫蜕皮。杆状病毒基因组中的 *egt* 基因可以编码蜕皮甾体尿苷 5'-二磷酸葡萄糖基转移酶 (ecdysteroid uridine 5'-diphosphate glucosyltransferase), 可以催化尿苷 5'-二磷酸糖基 (uridine 5'-diphosphate glucosyl) 添加到蜕皮激素上, 形成没有活性的蜕皮激素 22- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷 (ecdysone 22- $\beta$ -D-glucopyranose), 进而延迟蜕皮和化蛹, 以利于病毒大量繁殖 (Rodrigues *et al.*, 2001)。当昆虫被病毒感染后, 杆状病毒能增加宿主的活动能力以及促使其向高处攀爬, 虫体死亡液化破裂时能促进病毒的传播 (Kamita *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2015)。LdMNPV 的 *egt* 基因表达可以增强舞毒蛾 *L. dispar* 的攀爬行为, 这种行

为可能与 *egt* 导致的蜕皮激素的失活有关 (Hoover *et al.*, 2011)。蛋白质酪氨酸磷酸酯酶 (protein tyrosine phosphatase, PTP) 能将蛋白或者 RNA 去磷酸化, *ptp* 基因缺失的 BmNPV 无法诱导典型的病毒诱导性爬行症状 (Kamita *et al.*, 2005; Katsuma *et al.*, 2012)。但是 BmPTP 的磷酸化活性与病毒对宿主的行为控制无关 (Katsuma *et al.*, 2012)。此外, NPV 感染晚期的幼虫呈现能量代谢被抑制, 食欲减退, 体色变黄、发白的症状。

#### 5 总结与展望

昆虫和杆状病毒的相互作用是复杂而多样, 杆状病毒感染过程中涉及病毒形态转化、宿主的免疫防御与病毒对免疫的抑制、宿主细胞的凋亡、病毒对宿主基因组的整合等过程, 病毒和宿主双方博弈过程中的主导方如何变化仍不清楚。当前的研究大多集中在细胞中, 细胞和虫体中病毒与宿主的互作关系存在较大差异, 未来需要开展更多的活体研究。尽管当前对杆状病毒的感染过程研究的比较深入, 但是更多的实验结果还是集中在杆状病毒外壳蛋白的结构和功能的研究上, 如 GP64 蛋白。GP64 蛋白从 1995 年首次被发现到现在得到了广泛研究, 而对于病毒入侵细胞的具体过程还不是很清楚。ODV 是 NPV 启动侵染的重要病毒颗粒形态, 尽管 ODV 的关键组分已被鉴定, 但是 ODV 结合与进入细胞的机制有待深入研究。随着 CRISPR-Cas9 等技术的发展, 开发特定昆虫细胞系 (如 ODV 可侵染的细胞系) 和转基因昆虫, 将会更有利于研究 ODV 与宿主中肠细胞的相互作用。

杆状病毒的应用前景巨大, 从农业到医学都具有很好的实用性。杆状病毒对靶标害虫有很强的杀虫毒力, 而且对环境友好, 已被开发成农业害虫杀虫剂。已发现的 600 多种杆状病毒中只有个别 NPV 的寄主范围是广谱的, 其中甘蓝夜蛾核型多角体病毒 *Mamestra brassicae* multiple nucleopolyhedrovirus (MbMNPV) 的应用最多。针对目前 NPV 杀虫剂价格偏贵以及作用时间长的劣势, 扩展杆状病毒的寄主范围, 提升 NPV 的毒力, 缩短杀虫时间是亟待解决的问题。近年来杆状病毒表达载体系统被大量应用于高质量重组蛋白的表达, 已被用于多种疫苗的生产。重组杆状病毒 BacMam 作为质粒可以将携带的基因转移到哺乳动

物细胞中，并且因为哺乳动物细胞中没有杆状病毒的启动子，所以重组病毒并不能在细胞中复制，因此 BacMam 作为哺乳动物细胞基因载体，在疾病的基因治疗方面也有很好的潜在应用。

### 参考文献 (References)

- Abe T, Hemmi H, Miyamoto H, *et al.* Involvement of the toll-like receptor 9 signaling pathway in the induction of innate immunity by baculovirus [J]. *Journal of Virology*, 2005, 79 (5): 2847 – 2858.
- Ardissone-Araújo D, Rohmann G, Ribeiro B, *et al.* Functional characterization of *hesp018*, a baculovirus-encoded serpin gene [J]. *The Journal of General Virology*, 2015, 96.
- Backovic M, Jardetzky TS. Class III viral membrane fusion proteins [J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2011, 714: 91 – 101.
- Bao YY, Lv ZY, Liu ZB, *et al.* Comparative analysis of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus responsive genes in fat body and haemocyte of *B. mori* resistant and susceptible strains [J]. *Insect Molecular Biology*, 2010, 19 (3): 347 – 358.
- Biswas S, Willis LG, Fang M, *et al.* *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus ac141 (Exon0), a potential E3 ubiquitin ligase, interacts with viral ubiquitin and ac66 to facilitate nucleocapsid egress [J]. *Journal of Virology*, 2018, 92 (3).
- Blissard GW, Theilmann DA. Baculovirus entry and egress from insect cells [J]. *Annual Review of Virology*, 2018, 5 (1): 113 – 139.
- Braunagel SC, Russell WK, Rosas-Acosta G, *et al.* Determination of the protein composition of the occlusion-derived virus of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100 (17): 9797 – 9802.
- Braunagel SC, Summers MD. *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus, PDV, and ECV viral envelopes and nucleocapsids: Structural proteins, antigens, lipid and fatty acid profiles [J]. *Virology*, 1994, 202 (1): 315 – 328.
- Bronkhorst AW, Vogels R, Overheul GJ, *et al.* A DNA virus-encoded immune antagonist fully masks the potent antiviral activity of *mai* in *Drosophila* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2019, 116 (48): 24296.
- Cao Q, Zhu SY, Wu Y, *et al.* The effect of a small conotoxin-like *ctx* gene from *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus (AcMNPV) on insect hemolymph melanization [J]. *Polish Journal of Microbiology*, 2012, 61: 183 – 189.
- Choi JY, Roh JY, Wang Y, *et al.* Analysis of genes expression of *Apodoptera exigua* larvae upon AcMNPV infection [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7 (7): e42462.
- Crocker PR, Paulson JC, Varki A. Siglecs and their roles in the immune system [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2007, 7 (4): 255 – 266.
- Dall D, Luque T, O'Reilly D. Insect-virus relationships: Sifting by informatics [J]. *Bioessays*, 2001, 23 (2): 184 – 193.
- Danquah JO, Botchway S, Jeshtadi A, *et al.* Direct interaction of baculovirus capsid proteins VP39 and EXON0 with kinesin-I in insect cells determined by fluorescence resonance energy transfer-fluorescence lifetime imaging microscopy [J]. *Journal of Virology*, 2012, 86 (2): 844 – 853.
- Deng F, Wang R, Fang M, *et al.* Proteomics analysis of *Helicoverpa armigera* single nucleocapsid nucleopolyhedrovirus identified two new occlusion-derived virus-associated proteins, HA44 and HA100 [J]. *Journal of Virology*, 2007, 81 (17): 9377 – 9385.
- Denton D, Kumar S. Studying apoptosis in *Drosophila* [J]. *Cold Spring Harb Protoc*, 2015, 2015 (7): 609 – 613.
- Ding SW. RNA-based antiviral immunity [J]. *Nature Reviews: Immunology*, 2010, 10 (9): 632 – 644.
- Dong S, Blissard GW. Functional analysis of the *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus GP64 terminal fusion loops and interactions with membranes [J]. *Journal of Virology*, 2012, 86 (18): 9617 – 9628.
- Donly BC, Theilmann DA, Hegedus DD, *et al.* *Mamestra configurata* nucleopolyhedrovirus-A transcriptome from infected host midgut [J]. *Virus Genes*, 2014, 48 (1): 174 – 183.
- Falanga A, Tarallo R, Vitiello G, *et al.* Biophysical characterization and membrane interaction of the two fusion loops of glycoprotein B from herpes simplex type I virus [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7 (2): e32186.
- Faulkner P, Kuzio J, Williams GV, *et al.* Analysis of P74, a pdv envelope protein of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus required for occlusion body infectivity *in vivo* [J]. *Journal of General Virology*, 1997, 78 (Pt 12): 3091 – 3100.
- Fei DQ, Yu HZ, Xu JP, *et al.* Isolation of ferritin and its interaction with BmNPV in the silkworm, *Bombyx mori* [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2018, 86: 130 – 137.
- Gencer D, Nalcacioglu R, Demirbag Z, *et al.* Complete genome sequence analysis of the *Malacosoma neustria* nucleopolyhedrovirus from Turkey [J]. *Virus Genes*, 2018, 54 (5): 706 – 718.
- Granados RR, Lawler KA. *In vivo* pathway of *Autographa californica* baculovirus invasion and infection [J]. *Virology*, 1981, 108 (2): 297 – 308.
- Guan Z, Zhong L, Li C, *et al.* The *autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus *ac54* gene is crucial for localization of the major capsid protein VP39 at the site of nucleocapsid assembly [J]. *J Virol*, 2016, 90 (8): 4115 – 4126.
- Guo Y, Yue Q, Gao J, *et al.* Roles of cellular NSF protein in entry and nuclear egress of budded virions of *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus [J]. *Journal of Virology*, 2017, 91 (20): e01111 – 01117.
- Haas-Stapleton EJ, Washburn JO, Volkman LE. P74 mediates specific binding of *Autographa californica* m nucleopolyhedrovirus occlusion-derived virus to primary cellular targets in the midgut epithelia of *Heliothis virescens* larvae [J]. *Journal of Virology*, 2004, 78 (13): 6786 – 6791.
- Harrison RL, Herniou EA, Jehle JA, *et al.* ICTV virus taxonomy profile: *Baculoviridae* [J]. *J Gen Virol*, 2018, 99 (9): 1185 –

- 1186.
- Hawtin RE , Zarkowska T , Arnold K , *et al.* Liquefaction of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus-infected insects is dependent on the integrity of virus-encoded chitinase and cathepsin genes [J]. *Virology* , 1997 , 238 ( 2 ) : 243 – 253.
- Hofmann C , Sandig V , Jennings G , *et al.* Efficient gene transfer into human hepatocytes by baculovirus vectors [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , 1995 , 92 ( 22 ) : 10099 – 10103.
- Hoover K , Grove M , Gardner M , *et al.* A gene for an extended phenotype [J]. *Science* , 2011 , 333 ( 6048 ) : 1401.
- Huang DJ , Li Y , Yang ZX , *et al.* Association of the TLR4–MyD88–JNK signaling pathway with inflammatory response in intracranial hemorrhage rats and its effect on neuronal apoptosis [J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* , 2019 , 23 ( 11 ) : 4882 – 4889.
- Huntington JA. Serpin structure , function and dysfunction [J]. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* , 2011 , 9 ( 1 ) : 26 – 34.
- Ikeda M , Yamada H , Hamajima R , *et al.* Baculovirus genes modulating intracellular innate antiviral immunity of lepidopteran insect cells [J]. *Virology* , 2013 , 435 ( 1 ) : 1 – 13.
- Ishikawa H , Ikeda M , Yanagimoto K , *et al.* Induction of apoptosis in an insect cell line , IPLB–Ld652Y , infected with nucleopolyhedroviruses [J]. *Journal of General Virology* , 2003 , 84 ( Pt 3 ) : 705 – 714.
- Jayachandran B , Hussain M , Asgari S. RNA interference as a cellular defense mechanism against the DNA virus baculovirus [J]. *Journal of Virology* , 2012 , 86 ( 24 ) : 13729.
- Jehle JA , Blissard GW , Bonning BC , *et al.* On the classification and nomenclature of baculoviruses: A proposal for revision [J]. *Archives of Virology* , 2006 , 151 ( 7 ) : 1257 – 1266.
- Ji X , Sutton G , Evans G , *et al.* How baculovirus polyhedra fit square pegs into round holes to robustly package viruses [J]. *EMBO Journal* , 2010 , 29 ( 2 ) : 505 – 514.
- Kamita SG , Nagasaka K , Chua JW , *et al.* A baculovirus – encoded protein tyrosine phosphatase gene induces enhanced locomotory activity in a lepidopteran host [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , 2005 , 102 ( 7 ) : 2584 – 2589.
- Katsuma S , Koyano Y , Kang W , *et al.* The baculovirus uses a captured host phosphatase to induce enhanced locomotory activity in host caterpillars [J]. *PLoS Pathogens* , 2012 , 8 ( 4 ) : e1002644.
- Kuzio J , Jaques R , Faulkner P. Identification of p74 , a gene essential for virulence of baculovirus occlusion bodies [J]. *Virology* , 1989 , 173 ( 2 ) : 759 – 763.
- LaCount DJ , Hanson SF , Schneider CL , *et al.* Caspase inhibitor P35 and inhibitor of apoptosis Op – IAP block in vivo proteolytic activation of an effector caspase at different steps [J]. *Journal of Biological Chemistry* , 2000 , 275 ( 21 ) : 15657 – 15664.
- Lamkanfi M , Dixit VM. Manipulation of host cell death pathways during microbial infections [J]. *Cell Host & Microbe* , 2010 , 8 ( 1 ) : 44 – 54.
- Lange M , Wang H , Zhihong H , *et al.* Towards a molecular identification and classification system of lepidopteran – specific baculoviruses [J]. *Virology* , 2004 , 325 ( 1 ) : 36 – 47.
- Lemaitre B , Hoffmann J. The host defense of *Drosophila melanogaster* [J]. *Annual Review of Immunology* , 2007 , 25 : 697 – 743.
- Lin T , Yu M , Wu W , *et al.* Functional analysis of *Spodoptera litura* nucleopolyhedrovirus p49 gene during *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus infection of SpLi – 221 cells [J]. *Virus Genes* , 2010 , 41 ( 3 ) : 441 – 449.
- Liu W , Liu J , Lu Y , *et al.* Immune signaling pathways activated in response to different pathogenic micro – organisms in *Bombyx mori* [J]. *Mol Immunol* , 2015 , 65 ( 2 ) : 391 – 397.
- Long G , Pan X , Kormelink R , *et al.* Functional entry of baculovirus into insect and mammalian cells is dependent on clathrin – mediated endocytosis [J]. *Journal of Virology* , 2006 , 80 ( 17 ) : 8830 – 8833.
- Lu A , Zhang Q , Zhang J , *et al.* Insect prophenoloxidase: The view beyond immunity [J]. *Front Physiol.* , 2014 , 5 : 252.
- Lu P , Pan Y , Yang Y , *et al.* Discovery of anti – viral molecules and their vital functions in *Bombyx mori* [J]. *Journal of Invertebrate Pathology* , 2018 , 154 : 12 – 18.
- Lung O , Westenberg M , Vlak JM , *et al.* Pseudotyping *Autographa californica* multicapsid nucleopolyhedrovirus ( AcMNPV ) : F proteins from group II NPVs are functionally analogous to AcMNPV GP64 [J]. *Journal of Virology* , 2002 , 76 ( 11 ) : 5729 – 5736.
- Lung OY , Cruz – Alvarez M , Blissard GW. Ac23 , an envelope fusion protein homolog in the baculovirus *Autographa californica* multicapsid nucleopolyhedrovirus , is a viral pathogenicity factor [J]. *Journal of Virology* , 2003 , 77 ( 1 ) : 328 – 339.
- Mainz D , Quadt I , Knebel – Morsdorf D. Nuclear IE2 structures are related to viral DNA replication sites during baculovirus infection [J]. *Journal of Virology* , 2002 , 76 ( 10 ) : 5198 – 5207.
- Marek M , Merten OW , Galibert L , *et al.* Baculovirus VP80 protein and the F – actin cytoskeleton interact and connect the viral replication factory with the nuclear periphery [J]. *Journal of Virology* , 2011 , 85 ( 11 ) : 5350 – 5362.
- Moreno – Habel DA , Biglang – awa IM , Dulce A , *et al.* Inactivation of the budded virus of *Autographa californica* m nucleopolyhedrovirus by gloverin [J]. *J. Invertebr. Pathol.* , 2012 , 110 ( 1 ) : 92 – 101.
- Mueller J , Pfanzelter J , Winkler C , *et al.* Electron tomography and simulation of baculovirus actin comet tails support a tethered filament model of pathogen propulsion [J]. *PLoS Biol.* , 2014 , 12 ( 1 ) : e1001765.
- Ohkawa T , Volkman LE , Welch MD. Actin – based motility drives baculovirus transit to the nucleus and cell surface [J]. *Journal of Cell Biology* , 2010 , 190 ( 2 ) : 187 – 195.
- Oomens AG , Blissard GW. Requirement for GP64 to drive efficient budding of *Autographa californica* multicapsid nucleopolyhedrovirus [J]. *Virology* , 1999 , 254 ( 2 ) : 297 – 314.
- Paulson JC , Macauley MS , Kawasaki N. Siglecs as sensors of self in innate and adaptive immune responses [J]. *Glycobiology of the Immune Response* , 2012 , 1253 : 37 – 48.
- Pearson MN , Russell RL , Rohrmann GF. Characterization of a

- baculovirus-encoded protein that is associated with infected-cell membranes and budded virions [J]. *Virology*, 2001, 291 (1): 22–31.
- Peng K, Lent JW, Vlak JM, et al. In situ cleavage of baculovirus occlusion-derived virus receptor binding protein P74 in the peroral infectivity complex [J]. *Journal of Virology*, 2011, 85 (20): 10710–10718.
- Prikhod'ko EA, Miller LK. Role of baculovirus IE2 and its ring finger in cell cycle arrest [J]. *Journal of Virology*, 1998, 72 (1): 684–692.
- Qin F, Xu C, Hu J, et al. Dissecting the cell entry pathway of baculovirus by single-particle tracking and quantitative electron microscopic analysis [J]. *Journal of Virology*, 2019, 93 (8).
- Rodrigues JC, Souza ML, O'Reilly D, et al. Characterization of the *ecdysteroid udp-glucosyltransferase (egt)* gene of anticarsia gemmatalis nucleopolyhedrovirus [J]. *Virus Genes*, 2001, 22 (1): 103–112.
- Roulston A, Marcellus RC, Branton PE. Viruses and apoptosis [J]. *Annual Review of Microbiology*, 1999, 53: 577–628.
- Shi Y, Li K, Tang P, et al. Three-dimensional visualization of the *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus occlusion-derived virion envelopment process gives new clues as to its mechanism [J]. *Virology*, 2015, 476: 298–303.
- Shinya K, Ebina M, Yamada S, et al. Avian flu: Influenza virus receptors in the human airway [J]. *Nature*, 2006, 440 (7083): 435–436.
- Sugiura N, Ikeda M, Shioiri T, et al. Chondroitinase from baculovirus *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus and chondroitin sulfate from silkworm *Bombyx mori* [J]. *Glycobiology*, 2013, 23 (12): 1520–1530.
- Toprak U, Harris S, Baldwin D, et al. Role of enhancin in *Mamestra configurata* nucleopolyhedrovirus virulence: Selective degradation of host peritrophic matrix proteins [J]. *Journal of General Virology*, 2012, 93 (Pt 4): 744–753.
- Trudeau D, Washburn JO, Volkman LE. Central role of hemocytes in *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus pathogenesis in *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* [J]. *Journal of Virology*, 2001, 75 (2): 996.
- Tung H, Wei SC, Lo HR, et al. Baculovirus IE2 stimulates the expression of heat shock proteins in insect and mammalian cells to facilitate its proper functioning [J]. *PLoS ONE*, 2016, 11 (2): e0148578.
- Vlak JM, Klinkenberg FA, Zaal KJ, et al. Functional studies on the *p10* gene of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus using a recombinant expressing a  $p10-\beta$ -galactosidase fusion gene [J]. *Journal of General Virology*, 1988, 69 (Pt 4): 765–776.
- Voinnet O. Induction and suppression of RNA silencing: Insights from viral infections [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2005, 6 (3): 206–220.
- Volkman LE, Goldsmith PA. Mechanism of neutralization of budded *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus by a monoclonal antibody: Inhibition of entry by adsorptive endocytosis [J]. *Virology*, 1985, 143 (1): 185–195.
- Volkman LE, Goldsmith PA, Hess RT, et al. Neutralization of budded *Autographa californica* NPV by a monoclonal antibody: Identification of the target antigen [J]. *Virology*, 1984, 133 (2): 354–362.
- Votteler, Sundquist WI. Virus budding and the ESCRT pathway [J]. *Cell Host Microbe*, 2013, 14 (3): 232–241.
- Wang G, Zhang J, Shen Y, et al. Transcriptome analysis of the brain of the silkworm *Bombyx mori* infected with *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus: A new insight into the molecular mechanism of enhanced locomotor activity induced by viral infection [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2015, 128: 37–43.
- Wang M, Tan Y, Yin F, et al. The F protein *Helicoverpa armigera* single nucleopolyhedrovirus can be substituted functionally with its homologue from *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus [J]. *The Journal of General Virology*, 2008, 89: 791–798.
- Wang P, Granados RR. Calcofluor disrupts the midgut defense system in insects [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2000, 30 (2): 135–143.
- Wang X, Chen C, Zhang N, et al. The group I alphabaculovirus-specific protein, AC5, is a novel component of the occlusion body but is not associated with ODVs or the PIF complex [J]. *Journal of General Virology*, 2018, 99 (4): 585–595.
- Wang X, Shang Y, Chen C, et al. Baculovirus per os infectivity factor complex: Components and assembly [J]. *J. Virol.*, 2019, 93 (6): e02053–18.
- Wei D, Wang Y, Zhang X, et al. *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus Ac76: A dimeric type II integral membrane protein that contains an inner nuclear membrane-sorting motif [J]. *J. Virol.*, 2014, 88 (2): 1090–1103.
- Whitt MA, Manning JS. A phosphorylated 34-kDa protein and a subpopulation of polyhedrin are thiol-linked to the carbohydrate layer surrounding a baculovirus occlusion body [J]. *Virology*, 1988, 163 (1): 33–42.
- Williams T, Bergoin M, Oers MM. Diversity of large DNA viruses of invertebrates [J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2017, 147: 4–22.
- Xu J, Zhang P, Kusakabe T, et al. Comparative proteomic analysis of hemolymph proteins from *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus (AcMNPV)-sensitive or -resistant silkworm strains during infections [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology: Part D, Genomics & Proteomics*, 2015, 16: 36–47.
- Yamada H, Kitaguchi K, Hamajima R, et al. Novel apoptosis suppressor *apsup* from the baculovirus *Lymantria dispar* multiple nucleopolyhedrovirus precludes apoptosis by preventing proteolytic processing of initiator caspase *dronec* [J]. *Journal of Virology*, 2013, 87 (23): 12925–12934.
- Yamada H, Shibuya M, Kobayashi M, et al. Identification of a novel apoptosis suppressor gene from the baculovirus *Lymantria dispar* multicapsid nucleopolyhedrovirus [J]. *Journal of Virology*, 2011, 85 (10): 5237–5242.
- Yi HY, Chowdhury M, Huang YD, et al. Insect antimicrobial peptides

- and their applications [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98 ( 13 ): 5807 – 5822.
- Yuan C, Xing L, Wang M, *et al.* Inhibition of melanization by serpin – 5 and serpin – 9 promotes baculovirus infection in cotton bollworm *Helicoverpa armigera* [J]. *PLoS Pathogens*, 2017, 13 ( 9 ): e1006645.
- Yuan M, Huang Z, Wei D, *et al.* Identification of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus ac93 as a core gene and its requirement for intranuclear microvesicle formation and nuclear egress of nucleocapsids [J]. *Journal of Virology*, 2011, 85 ( 22 ): 11664 – 11674.
- Yue Q, Yu Q, Yang Q, *et al.* Distinct roles of cellular ESCRT – I and ESCRT – III proteins in efficient entry and egress of budded virions of *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus [J]. *Journal of Virology*, 2018, 92 ( 1 ) .
- Zhang P, Yang B, Dai XJ, *et al.* Apoptosis of *Spodoptera litura* cells induced by AcMNPV *ie-1* gene [J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2002, 34 ( 6 ): 707 – 711.
- Zhang X, Guo R, Kumar D, *et al.* Identification, gene expression and immune function of the novel *bm – stat* gene in virus – infected *Bombyx mori* [J]. *Gene*, 2016, 577 ( 1 ): 82 – 88.
- Zhang YH, Wei W, Xu P, *et al.* The cell cycle phase affects the potential of cells to replicate *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus [J]. *Acta Virologica*, 2012, 56 ( 2 ): 133 – 137.
- Zhou R, Yu ZH, Li XQ, *et al.* *Helicoverpa armigera* single nucleocapsid nucleopolyhedrovirus induces Hz – AM1 cell cycle arrest at the G2 phase with accumulation of cyclin B1 [J]. *Virus Research*, 2004, 105 ( 2 ): 113 – 120.
- Zhou Y, Gao L, Shi H, *et al.* Microarray analysis of gene expression profile in resistant and susceptible *Bombyx mori* strains reveals resistance-related genes to nucleopolyhedrovirus [J]. *Genomics*, 2013, 101 ( 4 ): 256 – 262.