

# 昆虫杆状病毒组学研究进展

梁振普,李路军,张俊庆,刘雅静,吴 慧,李鹏娟,冯文霞,张小霞\*

(河南农业大学 生命科学学院,河南 郑州 450002)

**摘要:** 杆状病毒(baculoviruses)是一类专性感染无脊椎动物的共价闭合双链环状 DNA 昆虫病毒。由于杆状病毒对环境和人畜无害,其作为生物农药在生物防治方面发挥着重大作用。此外,杆状病毒还可作为一种真核表达载体,广泛用于药物研发、疫苗生产,以及作为基因转移载体用于基因治疗等方面。综述了杆状病毒的基因组学及蛋白质组学研究进展,对阐明病毒的感染机制具有重要意义,并且在此基础上可针对性地对其进行分子改良或开发高效的生物增效剂。

**关键词:** 基因组;蛋白质组;杆状病毒;生物防治

**中图分类号:** S476.13 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2017)08-0001-06

## Advances in Research on Omics of Insect Baculoviruses

LIANG Zhenpu, LI Lujun, ZHANG Junqing, LIU Yajing, WU Hui, LI Pengjuan,  
FENG Wenxia, ZHANG Xiaoxia\*

(College of Life Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** Baculoviruses is a kind of covalently closed double stranded circular DNA insect virus and specifically infects invertebrates. As baculovirus is harmless to the environment and human beings, it plays an important role in biological control as a biological pesticide. Baculovirus can also be used as a kind of eukaryotic expression vector, widely applied in drug development and vaccine production, as well as gene transfer vector applied in gene therapy. This paper reviewed the research progress of baculovirus genomics and proteomics, which had great significance to clarify the virus infection mechanisms and also would be helpful to carry on molecular modification or develop highly effective biological synergists.

**Key words:** genome; proteome; baculoviruses; biological control

杆状病毒(baculoviruses)是一类专性感染无脊椎动物的共价闭合环状双链 DNA 病毒,病毒粒子呈杆状,因此而得名。其基因组大小一般为 80~180 kb,编码蛋白的开放阅读框(ORF)有 89~181 个<sup>[1]</sup>,存在于长度为 230~385 nm、直径为 40~60 nm 的核衣壳中<sup>[2]</sup>。目前,已报道的杆状病毒宿主超过了 600 种<sup>[3]</sup>。杆状病毒可分为以下 4 个属<sup>[4]</sup>: *Alphabaculovirus* [宿主为鳞翅目昆虫的核型多角体病毒(nucleopolyhedrovirus, NPV)]、*Betabaculovirus* [宿主为鳞翅目昆虫的颗粒体病毒(granulovirus, GV)]、*Gammabaculovirus* (宿主为膜翅目昆虫的 NPV)、*Deltabaculovirus* (宿主为双翅目昆虫的 NPV)。根据基

因的系统进化分析,又可将 NPV 分为 Group I 和 Group II<sup>[5]</sup>。

杆状病毒生活周期中会产生 2 种类型的病毒粒子:出芽型病毒(budded virus, BV)和包埋型病毒(occlusion-derived virus, ODV)。BV 出现在感染早期,负责病毒在昆虫体内细胞与组织间传播;ODV 产生于病毒感染的极晚期,负责病毒在昆虫个体之间的传播<sup>[6]</sup>。由于杆状病毒具有环境兼容性好、对人畜无害等优点,可以被作为高效、安全的杀虫剂广泛应用于害虫防治<sup>[7]</sup>。除了作为生物农药,杆状病毒的 Bac-to-Bac 表达系统还可用于外源基因的高效表达<sup>[8]</sup>,该表达系统具有翻译后加工修饰功能

收稿日期:2017-03-16

基金项目:国家自然科学基金项目(31570151,31272094);河南省高等学校重点科研项目(15A210039)

作者简介:梁振普(1976-),男,河南濮阳人,副教授,博士,主要从事病毒分子生物学研究。E-mail: lzpbio@126.com

\* 通讯作者:张小霞(1973-),女,河南济源人,教授,博士,主要从事病毒分子生物学研究。E-mail: lfzxx@sohu.com

和高效表达外源蛋白的能力,是一种非常理想的真核表达系统。随着高通量测序技术及质谱技术的发展与应用,杆状病毒基因组学及蛋白质组学研究也取得了飞速发展。为此,对杆状病毒的基因组学及蛋白质组学研究进展进行综述,以期加深对杆状病毒的了解,这对阐明病毒的感染机制具有重要意义。

## 1 杆状病毒基因组学

### 1.1 杆状病毒基因组序列的测定

1994年,Ayres等<sup>[9]</sup>首次报道了苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒(*Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus, AcMNPV)的基因组全序列,至今,NCBI数据库公布了73种杆状病毒全基因组序列,各个病毒的基因组信息见表1。已完成基因组序列测定的杆状病毒中,*Alphabaculovirus*属有45种,*Betabaculovirus*属有22种,*Deltabaculovirus*属有1种,*Gammabaculovirus*属有3种,另外还有2种未分类病毒。73种杆状病毒中,仅*Deltabaculovirus*属中的库蚊核型多角体病毒(*Culex nigripalpus* nucle-

opolyhedrovirus, CuniNPV)宿主为双翅目昆虫,*Gammabaculovirus*属中的红兴松树叶蜂核型多角体病毒(*Neodiprion lecontei* nucleopolyhedrovirus, NeleNPV)、松黄叶蜂核型多角体病毒(*Neodiprion sertifer* nucleopolyhedrovirus, NeseNPV)和香脂冷杉叶蜂核型多角体病毒(*Neodiprion abietis* nucleopolyhedrovirus, NeabNPV)的宿主为膜翅目昆虫,其余病毒宿主均为鳞翅目昆虫。AcMNPV和家蚕核型多角体病毒(*Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus, BmNPV)是*Alphabaculovirus*属的代表种,BmNPV与AcMNPV基因组同源性较高,可达90%<sup>[10]</sup>。目前对基因功能研究最深入的是AcMNPV,该病毒基因组大小为133 894 bp,G+C含量为40.7%,预测的ORFs有154个<sup>[9]</sup>。八字地老虎颗粒体病毒(*Xestia-cnigrum* granulovirus, XecnGV)是第1个完成全基因组测序的GV,其基因组大小为178 733 bp,G+C含量为40.7%,推测ORFs有181个,也是迄今基因组最大的杆状病毒<sup>[11]</sup>。

表 1 已完成全基因组序列测定的杆状病毒信息

病毒属	病毒	GenBank 登录号	大小/bp	ORFs 数量/个	G+C 含量/%	年份
<i>Alphabaculovirus</i>	茶小卷叶蛾核型多角体病毒(AdhoNPV)	NC_004690	113 220	125	35.6	2003
	棉褐带卷蛾核型多角体病毒(AdorNPV)	NC_011423	111 724	121	35.0	2008
	小地老虎核型多角体病毒(AgipMNPV)	NC_011345	155 122	163	48.6	2008
	黄地老虎核型多角体病毒 A 株(AgseNPV - A)	NC_007921	147 544	153	45.7	2006
	黄地老虎核型多角体病毒 B 株(AgseNPV - B)	NC_025960	148 981	150	45.6	2014
	柞蚕核型多角体病毒(AnpeNPV)	NC_008035	126 629	147	53.4	2006
	黎豆夜蛾核型多角体病毒 37 株(AgMNPV - 37)	NC_031761	131 855	156	44.5	2016
	黎豆夜蛾核型多角体病毒 2D 株(AgMNPV - 2D)	NC_008520	132 239	158	44.5	2015
	杨尺蠖核型多角体病毒(ApciNPV)	NC_018504	123 876	117	33.4	2012
	苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒(AcMNPV)	NC_001623	133 894	154	40.7	1994
	家蚕核型多角体病毒(BmNPV)	NC_001962	128 413	136	40.0	1996
	油桐尺蠖核型多角体病毒(BusuNPV)	NC_023442	120 420	127	36.8	2014
	迂粉蝶核型多角体病毒(CapoNPV)	NC_030240	128 058	130	40.0	2016
	枫色卷蛾缺陷型核型多角体病毒(CiDEFMNPV)	NC_005137	131 160	149	45.8	2003
	枫色卷蛾核型多角体病毒(CfMNPV)	NC_004778	129 593	146	50.1	2003
	紫色卷蛾核型多角体病毒(ChmuNPV)	NC_023177	124 688	148	50.0	2014
	玫瑰色卷蛾核型多角体病毒(ChroNPV)	NC_021924	129 052	149	48.6	2013
	裸纹夜蛾核型多角体病毒(ChchNPV)	NC_007151	149 622	151	39.1	2005
	豆天蛾核型多角体病毒(ClbiNPV)	NC_008293	135 454	139	37.0	2006
	桃蛀螟核型多角体病毒(CoveMNPV)	NC_026430	125 767	138	42.9	2015
	茶尺蠖核型多角体病毒(EcobNPV)	NC_008586	131 204	126	37.6	2006
	苹淡褐卷蛾核型多角体病毒(EppoNPV)	NC_003083	118 584	136	40.7	2001
	茶毛虫核型多角体病毒(EupsNPV)	NC_012639	141 291	139	40.4	2009
	棉铃虫核型多角体病毒(HearNPV)	NC_003094	130 759	137	38.9	2001
	新天蚕蛾核型多角体病毒(HespNPV)	NC_021923	140 633	137	38.1	2013
	美国白蛾核型多角体病毒(HycuNPV)	NC_007767	132 959	148	45.1	2006
	东方铁杉尺蠖核型多角体病毒(LafiNPV)	NC_026922	157 989	135	44.0	2015
	黏虫核型多角体病毒(LeseNPV)	NC_008348	168 041	169	48.6	2006
	舞毒蛾核型多角体病毒(LdMNPV)	NC_001973	161 046	163	57.5	1998
	木毒蛾核型多角体病毒(LyxyMNPV)	NC_013953	156 344	157	53.4	2010
	甘蓝夜蛾核型多角体病毒(MabrMNPV)	NC_023681	152 710	159	39.9	2014
	披肩黏虫核型多角体病毒 A 株(MacoNPV - A)	NC_003529	155 060	169	41.7	1997
	披肩黏虫核型多角体病毒 B 株(MacoNPV - B)	NC_004117	158 482	168	40.0	2002

续表 1 已完成全基因组序列测定的杆状病毒信息

病毒属	病毒	GenBank 登录号	大小/bp	ORFs 数量/个	G + C 含量/%	年份
	豆荚螟核型多角体病毒 (MaviNPV)	NC_008725	111 953	126	38.6	2006
	白斑天幕毛虫核型多角体病毒 (OrleNPV)	NC_010276	156 179	135	39.9	2008
	黄杉毒蛾核型多角体病毒 (OpMNPV)	NC_001875	131 995	152	55.1	1997
	杂色地老虎核型多角体病毒 (PespNPV)	NC_024625	151 110	138	53.3	2014
	大豆尺蠖蛾单粒包埋核型多角体病毒 IE 株 (PsinSNPV - IE)	NC_026268	139 132	141	39.3	2015
	甜菜夜蛾核型多角体病毒 (SeMNPV)	NC_002169	135 611	139	43.7	1999
	草地贪夜蛾核型多角体病毒 (SfMNPV)	NC_009011	131 330	143	40.2	2007
	斜纹夜蛾核型多角体病毒 (SplMNPV)	NC_003102	139 342	141	42.7	2001
	斜纹夜蛾核型多角体病毒 II (SplMNPV - II)	NC_011616	148 634	147	45.0	2008
	枣尺蠖核型多角体病毒 (SujuNPV)	NC_028636	135 952	131	38.7	2015
	拟中金翅蛾核型多角体病毒 (ThorNPV)	NC_019945	132 978	145	37.9	2013
	粉纹夜蛾单粒包埋核型多角体病毒 (TnSNPV)	NC_007383	134 394	145	39.0	2005
<i>Betabaculovirus</i>	棉褐带卷蛾颗粒体病毒 (AdorGV)	NC_005038	99 657	119	34.5	2003
	黄地老虎颗粒体病毒 (AgseGV)	NC_005839	131 680	132	37.2	2004
	云杉卷叶蛾颗粒体病毒 (ChocGV)	NC_008168	104 710	116	32.7	2006
	杨扇舟蛾颗粒体病毒 (ClanGV)	NC_015398	101 487	123	44.4	2011
	分月扇舟蛾颗粒体病毒 (CaLGV)	NC_022646	101 818	122	46.7	2013
	稻纵卷叶螟颗粒体病毒 (CnmeGV)	NC_029304	111 246	118	35.2	2016
	苹果异形小卷蛾颗粒体病毒 (CrleGV)	NC_005068	110 907	129	32.4	2003
	苹果蠹蛾颗粒体病毒 (CpGV)	NC_002816	123 500	143	43.2	2001
	小蔗秆草螟颗粒体病毒 (DisaGV)	NC_028491	98 392	125	29.7	2015
	菜豆小卷蛾颗粒体病毒 (EpapGV)	NC_018875	119 082	132	41.5	2012
	木薯天蛾颗粒体病毒 (ErelGV)	NC_025257	102 759	130	38.7	2014
	棉铃虫颗粒体病毒 (HearGV)	NC_010240	169 794	179	40.8	2008
	桃蛀螟颗粒体病毒 (MospGV)	NC_029996	134 272	144	38.3	2016
	黏虫颗粒体病毒 (MyunGV)	NC_033780	144 510	153	49.9	2017
	马铃薯麦蛾颗粒体病毒 (PhopGV)	NC_004062	119 217	130	35.7	2002
	菜粉蝶颗粒体病毒 (PrGV)	NC_013797	108 592	120	33.2	2010
	印度谷螟颗粒体病毒 (PiGV)	NC_032255	112 536	123	44.2	2016
	小菜蛾颗粒体病毒 (PlxyGV)	NC_002593	100 999	120	40.7	2000
	美洲黏虫颗粒体病毒 (PuGV)	NC_013772	176 677	183	39.8	2010
	草地贪夜蛾颗粒体病毒 (SfGV)	NC_026511	140 913	146	46.2	2015
	斜纹夜蛾颗粒体病毒 (SplGV)	NC_009503	124 121	136	38.8	2007
	八字地老虎颗粒体病毒 (XeenGV)	NC_002331	178 733	181	40.7	2000
<i>Deltabaculovirus</i>	库蚊核型多角体病毒 (CuniNPV)	NC_003084	108 252	109	50.9	2001
<i>Gammabaculovirus</i>	香脂冷杉叶蜂核型多角体病毒 (NeabNPV)	NC_008252	84 264	93	33.5	2006
	红兴松树叶蜂核型多角体病毒 (NeleNPV)	NC_005906	81 755	93	33.3	2004
	松黄叶蜂核型多角体病毒 (NeseNPV)	NC_005905	86 462	90	33.7	2004
unclassified	咖啡蛾单粒包埋核型多角体病毒 (PeluSNPV)	NC_027923	132 831	145	39.6	2015
<i>Baculoviridae</i>	长尾弄蝶核型多角体病毒 (UrpNPV)	NC_029997	105 667	124	34.8	2016

注:所有数据均来自 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/GenomesGroup.cgi?taxid=10442>。

### 1.2 杆状病毒的基因组结构及特征

杆状病毒 G + C 或 A + T 含量是基因组的基本信息,G + C 含量在某种程度上会影响密码子的使用<sup>[12]</sup>。由表 1 可知,不同杆状病毒基因组间 G + C 含量差别较大,G + C 含量最高的为舞毒蛾核型多角体病毒 (*Lymantria dispar* multiple nucleopolyhedrovirus, LdMNPV) (57.5%), 含量最低的为苹果异形小卷蛾颗粒体病毒 (*Cryptophlebia leucotreta* granulovirus, CrleGV) (32.4%)。在进行杆状病毒基因组序列分析时,目前将杆状病毒最为保守的多角体基因 ORF 作为起始 ORF,然后以顺时针方向进行基因的依次排列,这样的基因排列方式有利于进行病毒间的比较。

*bro*(baculovirus repeat open reading frames) 基因

是杆状病毒的一个显著特征,该基因在不同杆状病毒基因组中的拷贝数有较大的差异。序列分析表明,正是 *bro* 基因家族的存在,导致了甘蓝夜蛾核型多角体病毒 (*Mamestra brassicae* multiple nucleopolyhedrovirus, MabrMNPV) 和棉铃虫核型多角体病毒 (*Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus, HearNPV) 基因组之间的大小差异<sup>[13-14]</sup>。研究人员通过试验推测,*bro* 可能与杆状病毒的复制与宿主域有关<sup>[15]</sup>,但其在杆状病毒感染过程的确切功能目前还不十分明了。

杆状病毒基因组的另外一个重要特征是,绝大多数都拥有同源重复序列 (homologous regions, *hr*)。*hr* 呈分散状位于基因组的多个位置,是杆状病毒基因组的功能区域,有研究显示,*hr* 具有增强早期基

因转录<sup>[16-18]</sup>和作为 DNA 复制起始位点的功能<sup>[19-20]</sup>。生物信息学分析结果显示, *hr* 通常是 AT 富集区, 包括数目不等的重复回文序列<sup>[20-22]</sup>。不同的杆状病毒基因组中 *hr* 的数目相差很大, 例如, AcMNPV 基因组中有 9 个 *hr*, 共包括 38 个重复<sup>[9]</sup>, 每个重复包含一段长 28 bp 的回文序列, 而斜纹夜蛾核型多角体病毒 (*Spodoptera litura* multiple nucleopolyhedrovirus, SpltMNPV) 基因组中则有 17 个 *hr*<sup>[23]</sup>。相对于 NPV 来说, GV 基因组中的 *hr* 数目比较少, 并且不含典型的回文结构<sup>[24]</sup>。但有些杆状病毒基因组, 如裸纹夜蛾核型多角体病毒 (*Chrysodeixis chalcites* nucleopolyhedrovirus, ChchNPV)、棉褐带卷蛾核型多角体病毒 (*Adoxophyes orana* granulovirus, AdorGV)、黄地老虎颗粒体病毒 (*Agrotis segetum* granulovirus, AgseGV) 和苹果蠹蛾颗粒体病毒 (*Cydia pomonella* granulovirus, CpGV) 中未发现 *hr*<sup>[25]</sup>, 而 CpGV 基因组中仅有 1 个主要的重复区域, 包含 13 段长度为 73 ~ 77 bp 的回文序列, 可能具有 *hr* 相似的功能<sup>[26]</sup>。关于 *hr* 在杆状病毒增殖、复制以及感染过程中的确切功能还有待被揭示。

核心基因指的是通过生物信息学分析得到的在已知所有杆状病毒中都存在的基因, 目前为止, 已被确定的杆状病毒核心基因有 37 个<sup>[27]</sup>。以 AcMNPV 为例, 根据功能不同核心基因主要可分为以下 5 类: 包装、装配和释放相关基因, 如 *Ac53*、*Ac54*、*Ac77*、*Ac80*、*Ac83*、*Ac89*、*Ac100*、*Ac98*、*Ac101*、*Ac142*、*Ac109*、*Ac92*、*Ac143*、*Ac66*、*Ac68*、*Ac133*、*Ac94*、*Ac78*、*Ac93*; DNA 复制相关基因, 如 *Ac14*、*Ac6*、*Ac65*、*Ac95*; 转录相关基因, 如 *Ac90*、*Ac99*、*Ac40*、*Ac50*、*Ac62*; 细胞周期或与宿主蛋白互作相关基因, 如 *Ac144*、*Ac81*; 口服感染相关基因, 如 *Ac138*、*Ac119*、*Ac22*、*Ac115*、*Ac96*、*Ac148*、*Ac68*。目前, 杆状病毒核心基因的确定是基于生物信息学的分析结果, 相信随着基因功能研究的进一步深入, 杆状病毒核心基因的数目和种类也会发生改变。

### 1.3 杆状病毒系统发育与进化研究

早期人们常常选择单基因构建系统发育树, 从而推测杆状病毒的进化关系。例如, 最初人们采用了杆状病毒最为保守的包涵体蛋白基因序列进行了杆状病毒的系统发育分析, 并基于该结果将杆状病毒中 NPV 属分为 Group I 和 Group II<sup>[5]</sup>。但在分析的过程中人们发现根据不同基因构建的进化树之间存在不同程度的分歧<sup>[28]</sup>, 因此, 单个基因的进化历程并不能代表整个病毒。随着越来越多杆状病毒基因组的测序完成, 研究者采用 Gene parity plots 方

法, 基于杆状病毒的全基因组序列进行了杆状病毒间的亲缘关系分析<sup>[29]</sup>。该方法不仅可以解决单基因进化树不一致的问题, 而且还可以非常直观地比较不同病毒的同源基因在基因组上的线性排列结构。基于杆状病毒全基因组信息构建的进化树及线性比较结果对于理解杆状病毒生物学和生态学特征及多样性, 阐明杆状病毒系统进化十分有益。

## 2 杆状病毒蛋白质组学

杆状病毒生活史中能产生 ODV 和 BV 2 种不同的病毒粒子, ODV 负责病毒的口服感染, BV 负责病毒在昆虫体内的传播<sup>[6]</sup>, 这 2 种病毒粒子基因型相似, 但具有各自特异的结构蛋白成分以保证它们实现特定的侵染功能。为了深入了解 BV 和 ODV 的结构及侵染机制的差异性, 有必要明确这 2 种病毒粒子的蛋白质组。

研究者运用以质谱为主的多种生物学技术对多种杆状病毒的 BV 和 ODV 的蛋白质组进行了鉴定, 目前共完成了 9 种杆状病毒 ODV 的蛋白质组鉴定, 其中 6 种来源于 *Alphabaculovirus* 属: AcMNPV<sup>[30]</sup>、黎豆夜蛾核型多角体病毒 (*Anticarsia gemmatalis* multiple nucleopolyhedrovirus, AgMNPV)<sup>[31]</sup>、HearNPV<sup>[32]</sup>、MabrMNPV<sup>[33]</sup>、ChchNPV<sup>[34]</sup>、BmNPV<sup>[35]</sup>; 2 种来源于 *Betabaculovirus* 属: 菜粉蝶颗粒体病毒 (*Pieris rapae* granulovirus, PrGV)<sup>[36]</sup> 和杨扇舟蛾颗粒体病毒 (*Clostera anachoreta* granulovirus, ClanGV)<sup>[37]</sup>; 1 种来源于 *Deltabaculovirus* 属: CuniNPV<sup>[38]</sup> (表 2)。在上述已完成 ODV 鉴定的 9 种杆状病毒中, 有 4 种病毒也完成了 BV 的蛋白质组鉴定, 分别为 AcMNPV、AgMNPV、HearNPV 和 MabrMNPV, 这 4 种病毒都来源于 *Alphabaculovirus* 属 (表 2)。随着质谱技术的日趋完善和灵敏度的提高, 被鉴定出的蛋白质成分也越来越全面, 例如对于 ODV 来说, 杆状病毒 ODV 上被鉴定出的蛋白质数量差别较大, 最少的是 2008 年鉴定的 BmNPV, 只有 16 个蛋白质被检测出来<sup>[35]</sup>, 最多的是 2016 年完成鉴定的 MabrMNPV, ODV 相关蛋白质数量达 82 个<sup>[33]</sup>。对于 BV, 4 种杆状病毒被鉴定出的蛋白质数量在 33 ~ 44 个, 均比 ODV 上的蛋白质数量少 (表 2)。杆状病毒的宿主域相对较窄, 只有少数几种具有广泛的宿主域, 例如 MabrMNPV, 该病毒可以感染 30 种夜蛾科昆虫<sup>[39]</sup>, 因此在害虫控制方面具有重大的应用价值。Hou 等<sup>[33]</sup>利用该病毒感染棉铃虫和甜菜夜蛾 2 种昆虫后, 分别收集利用 2 种昆虫增殖的 ODV 和 BV 进行了蛋白质组鉴定。结果证明, 从棉铃虫和甜菜夜蛾增殖的 ODV

中共鉴定出了 82 个蛋白质,其中有 69 个是从 2 种昆虫中共同鉴定出来的,有 6 个只在棉铃虫增殖的 ODV 中存在,7 个只在甜菜夜蛾增殖的 ODV 中存在。而对于 BV,2 种昆虫中共鉴定的蛋白质是 39 个,其中 22 个是 2 种昆虫增殖的 BV 都具有的,11 个只在棉铃虫增殖的 BV 中存在,6 个只在甜菜夜蛾增殖的 BV 中存在。综上,用同一种病毒感染不同昆虫宿主后获得的 ODV 和 BV 具有不同的特异蛋

白质成分,暗示可能是宿主影响了 ODV 和 BV 的蛋白质组成,这些差异蛋白质极有可能决定了病毒的宿主域。随着越来越多杆状病毒蛋白质组的解析,人们将会更好地了解杆状病毒的宿主域决定因子<sup>[40]</sup>,从而通过基因工程手段扩大杆状病毒宿主范围,克服其应用过程中宿主范围窄的缺陷,加快其服务农林生产的步伐。

表 2 已完成蛋白质组鉴定的杆状病毒

病毒	被鉴定的蛋白质数量/个		鉴定方法	病毒属	文献
	ODV	BV			
AcMNPV	44	33	MS、LC-Qtrap、LC-Q-TOF、MALDI-TOF	<i>Alphabaculovirus</i>	[30]
CuniNPV	43		Edman sequencing、MALDI-TOF	<i>Deltabaculovirus</i>	[38]
BmNPV	16		2-DE、MS	<i>Alphabaculovirus</i>	[35]
ChchNPV	53		LC-MS/MS	<i>Alphabaculovirus</i>	[34]
PrGV	47		MALDI-TOF/TOF、LC-LTQ、LTQ-Orbitrap	<i>Betabaculovirus</i>	[36]
HearNPV	57	44	iTRAQ、shotgun、IMAC、SDS-PAGE、LC-MS/MS	<i>Alphabaculovirus</i>	[32]
AgMNPV	44	33	2-DE、MALDI-Q-TOF、SDS-PAGE、LC-MS/MS	<i>Alphabaculovirus</i>	[31]
ClanGV	73		LC-MS/MS	<i>Betabaculovirus</i>	[37]
MabrMNPV	82	39	LC-MS/MS	<i>Alphabaculovirus</i>	[33]

注:MS. 质谱;LC-Qtrap. 液相色谱-串联四级杆复合线性离子阱;LC-Q-TOF. 四级杆-飞行时间串联质谱;MALDI-TOF. 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱;Edman sequencing. 埃德曼测序;2-DE. 双向凝胶电泳技术;shotgun. 鸟枪法;LC-MS/MS. 液相色谱质谱/质谱联用;LTQ-Orbitrap. 二维线性离子阱-静电轨道组式高分辨率质谱;iTRAQ. 同位素标记相对和绝对定量;IMAC. 固定化金属离子亲和层析;MALDI-Q-TOF. 基质辅助激光解吸离子化-三级四级杆-飞行时间质谱;SDS-PAGE. 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳。

### 3 小结

杆状病毒可被研制成生物农药有效地控制害虫危害,改善目前恶劣的生态环境,同时作为一种重要的真核表达系统,杆状病毒被广泛应用于科学研究领域,具有巨大的科研价值<sup>[41]</sup>。然而作为杀虫剂,杆状病毒具有杀虫速度慢和宿主域窄等缺点,大大限制了其应用<sup>[42]</sup>。作为表达系统,其表达能力和蛋白质表达后的修饰水平还有待提高。随着更多的杆状病毒基因组测序的完成以及蛋白质组的鉴定,其将为阐明杆状病毒的侵染机制、分子进化、病毒与宿主的特异性分子互作关系提供重要的理论依据,而在此基础上人们就能利用分子生物学技术对杆状病毒进行分子改良,克服其目前应用中的缺陷,使其更好地服务于人类生产。

#### 参考文献:

[1] van Oers M M, Vlak J M. Baculovirus genomics[J]. *Current Drug Targets*, 2007, 8(10):1051-1068.  
 [2] Ackermann H W, Smirnov W A. A morphological investigation of 23 baculoviruses[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1983, 41(3):269-280.  
 [3] Martignoni M E, Iwai P J. Propagation of multicapsid nuclear polyhedrosis virus of *Orgyia pseudotsugata* in larvae of *Trichoplusia ni*[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1986, 47(1):32-41.

[4] Jehle J A, Blissard G W, Bonning B C, et al. On the classification and nomenclature of baculoviruses: A proposal for revision[J]. *Archives of Virology*, 2006, 151(7):1257-1266.  
 [5] Zanotto P M D A, Kessing B D, Maruniak J E. Phylogenetic interrelationships among baculoviruses: Evolutionary rates and host associations[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1993, 62(2):147-164.  
 [6] Keddie B A, Aponte G W, Volkman L E, et al. The pathway of infection of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus in an insect host[J]. *Science*, 1989, 243(4899):1728-1730.  
 [7] Moscardi F. Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera[J]. *Annual Review of Entomology*, 1999, 44(1):257-289.  
 [8] Smith G E, Summers M D, Fraser M J. Production of human beta interferon in insect cells infected with a baculovirus expression vector[J]. *Molecular & Cellular Biology*, 1983, 3(12):2156-2165.  
 [9] Ayres M D, Howard S C, Kuzio J, et al. The complete DNA sequence of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus[J]. *Virology*, 1994, 202(2):586-605.  
 [10] Wu Y, Wu Y J, Hui T, et al. Reaper homologue IBM1 in silkworm *Bombyx mori* induces apoptosis upon baculovirus infection[J]. *FEBS Letters*, 2013, 587(6):600-606.  
 [11] Hayakawa T, Ko R, Okano K, et al. Sequence analysis of the *Xestia c-nigrum* granulovirus genome[J]. *Virology*, 1999, 262(2):277-297.  
 [12] Possee R D, Rohrmann G F. Baculovirus genome organization and evolution[M]//The baculoviruses. US:Springer, 1997:109-140.

- [13] Harrison R L, Bonning B C. Comparative analysis of the genomes of *Rachiplusia ou* and *Autographa californica* multiple nucleopolyhedroviruses [J]. *Journal of General Virology*, 2003, 84(7):1827-1842.
- [14] Tang P, Zhang H, Li Y, *et al.* Genomic sequencing and analyses of HearMNPV—A new multinucleocapsid nucleopolyhedrovirus isolated from *Helicoverpa armigera* [J]. *Virology Journal*, 2012, 9(1):168-186.
- [15] Kang W, Suzuki M, Zemskov E A, *et al.* Characterization of baculovirus repeated open reading frames (*bro*) in *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus [J]. *Journal of Virology*, 1999, 73(12):10339-10345.
- [16] Theilmann D A, Stewart S. Tandemly repeated sequence at the 3' end of the *IE-2* gene of the baculovirus *Orgyia pseudotsugata* multicapsid nuclear polyhedrosis virus is an enhancer element [J]. *Virology*, 1992, 187(1):97-106.
- [17] Rodems S M, Friesen P D. The *hr5* transcriptional enhancer stimulates early expression from the *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus genome but is not required for virus replication [J]. *Journal of Virology*, 1993, 67(10):5776-5785.
- [18] Lu M, Farrell P J, Johnson R, *et al.* A baculovirus (BmNPV) repeat element functions as a powerful constitutive enhancer in transfected insect cells [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1998, 272(49):30724-30728.
- [19] Kool M, van den Berg P M, Tramper J, *et al.* Location of two putative origins of DNA replication of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus [J]. *Virology*, 1993, 192(1):94-101.
- [20] Pearson M N, Rohrmann G F. *Lymantria dispar* nuclear polyhedrosis virus homologous regions: Characterization of their ability to function as replication origins [J]. *Journal of Virology*, 1995, 69(1):213-221.
- [21] Crouch E A, Passarelli A L. Genetic requirements for homologous recombination in *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus [J]. *Journal of Virology*, 2002, 76(18):9323-9334.
- [22] Nakai M, Goto C, Kang W, *et al.* Genome sequence and organization of a nucleopolyhedrovirus isolated from the smaller tea tortrix, *Adoxophyes honmai* [J]. *Virology*, 2003, 316(1):171-183.
- [23] Pang Y, Yu J, Wang L, *et al.* Sequence analysis of the *Spodoptera litura* multicapsid nucleopolyhedrovirus genome [J]. *Virology*, 2001, 287(2):391-404.
- [24] Liang Z, Zhang X, Yin X. Genomic sequencing and analysis of *Clostera anachoreta* granulovirus [J]. *Archives of Virology*, 2011, 156(7):1185-1198.
- [25] van Oers M M, Abma-Henkens M H, Herniou E A, *et al.* Genome sequence of *Chrysodeixis chalcites* nucleopolyhedrovirus, a baculovirus with two DNA photolyase genes [J]. *Journal of General Virology*, 2005, 86(7):2069-2080.
- [26] Luque T, Finch R, Crook N, *et al.* The complete sequence of the *Cydia pomonella* granulovirus genome [J]. *Journal of General Virology*, 2001, 82(10):2531-2547.
- [27] Garavaglia M, Miele S A, Iserte J A, *et al.* The *ac53*, *ac78*, *ac101*, and *ac103* genes are newly discovered core genes in the family *Baculoviridae* [J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(22):12069-12079.
- [28] Kang W, Tristem M, Maeda S, *et al.* Identification and characterization of the *Cydia pomonella* granulovirus cathepsin and chitinase genes [J]. *Journal of General Virology*, 1998, 79(9):2283-2292.
- [29] Herniou E A, Luque T, Chen X, *et al.* Use of whole genome sequence data to infer baculovirus phylogeny [J]. *Journal of Virology*, 2001, 75(17):8117-8126.
- [30] Braunagel S C, Russell W K, 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.
- [31] Braconi C T, Ardisson-Araújo D M P, Leme A F P, *et al.* Proteomic analyses of baculovirus *Anticarsia gemmatilis* multiple nucleopolyhedrovirus budded and occluded virus [J]. *Journal of General Virology*, 2014, 95(4):980-989.
- [32] Hou D, Zhang L, Deng F, *et al.* Comparative proteomics reveal fundamental structural and functional differences between the two progeny phenotypes of a baculovirus [J]. *Journal of Virology*, 2013, 87(2):829-839.
- [33] Hou D, Chen X, Zhang L, *et al.* Proteomic analysis of *Mamestra brassicae* nucleopolyhedrovirus progeny virions from two different hosts [J]. *PLoS One*, 2016, 11(4):e0153365.
- [34] Xu F, Ince I A, Boeren S, *et al.* Protein composition of the occlusion derived virus of *Chrysodeixis chalcites* nucleopolyhedrovirus [J]. *Virus Research*, 2011, 158(1/2):1-7.
- [35] Liu X, Chen K, Cai K, *et al.* Determination of protein composition and host-derived proteins of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus by 2-dimensional electrophoresis and mass spectrometry [J]. *Intervirology*, 2008, 51(5):369-376.
- [36] Wang X F, Zhang B Q, Xu H J, *et al.* ODV-associated proteins of the *Pieris rapae* granulovirus [J]. *Journal of Proteome Research*, 2011, 10(6):2817-2827.
- [37] Zhang X, Liang Z, Yin X, *et al.* Proteomic analysis of the occlusion-derived virus of *Clostera anachoreta* granulovirus [J]. *Journal of General Virology*, 2015, 96(8):2394-2404.
- [38] Perera O P, Green T, Stevens S M, *et al.* Proteins associated with *Culex nigripalpus* nucleopolyhedrovirus occluded virions [J]. *Journal of Virology*, 2007, 81(9):4585-4590.
- [39] Doyle C J, Hirst M L, Cory J S, *et al.* Risk assessment studies: Detailed host range testing of wild-type cabbage moth, *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae), nuclear polyhedrosis virus [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 1990, 56(9):2704-2710.
- [40] 余倩. 杆状病毒与抗凋亡基因的进化关系研究 [J]. *河南农业科学*, 2011, 40(1):97-102.
- [41] 王晓玲, 魏美才, 夏春兰. 昆虫杆状病毒的研究与应用 [J]. *河南农业科学*, 2006(6):61-65.
- [42] 孙新城, 景建洲, 陈小科. 杆状病毒的生态学和流行病学研究进展 [J]. *河南农业科学*, 2007(10):16-18.