

豆天蛾核型多角体病毒 F 蛋白基因的克隆和序列分析

庞俊星, 易建平, 朱姝颖, 王文兵*

(1. 江苏大学生命科学研究院, 江苏镇江 212013; 2. 上海市出入境检验检疫局, 上海 200135)

摘要 从豆天蛾幼虫虫体中分离纯化出一种新型的豆天蛾核型多角体病毒(CbNPV), 提取基因组 DNA, 进行基因组测序。结果发现一个与杆状病毒 F 蛋白基因同源性很高的读码框序列, 该长度为 2 109 bp, 编码 702 个氨基酸。氨基酸序列同源性分析表明: CbNPV F 蛋白与 II 类 NPV 和 I 类 NPV F 蛋白的同源性分别为 32.9% ~ 61.8% 和 8.0% ~ 16.1%, 并且将它与多种 I 类 NPV 杆状病毒同功能蛋白 GP64 进行分析, 同源性在 9.1% ~ 11.4%, 表明 CbNPV F 蛋白与 I 类 NPV 的 F 及 GP64 蛋白的同源性很低, 因此认为 CbNPV 属于 II 类 NPV。

关键词 豆天蛾核型多角体病毒; F 蛋白; 序列; 分析; gp64 基因

中图分类号 Q946 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)15-3621-04

Cloning and Sequence Analysis of F Protein Gene of *Clanis bilineata* Nuclear Polyhedrosis Virus

PANG Jun-xing et al (Institute of Life Sciences, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013)

Abstract *Clanis bilineata* Nuclear Polyhedrosis Virus (CbNPV) was purified from *Clanis bilineata* larva. To obtain the molecular information of the virus, the genomic DNA of CbNPV was extracted, and a DNA fragment library of the virus was constructed by Shotgun. The positive clones were sequenced and analyzed. A new open reading frame, which had high identification with the F protein gene of most baculoviruses, was found in the library. The F protein gene of CbNPV was 2 109 bp long and encoded a protein with 702 amino acids. The characteristic and structure of the sequence was analyzed. The amino acid sequence analysis indicated that the CbNPV F protein had 8.0% ~ 16.1% and 32.9% ~ 61.8% identities with Group I and II NPVs F proteins, respectively. And then to be compared with many kinds of group I NPVs gp64 gene, the result indicated that they had 9.1% ~ 11.4% homology, which showed that CbNPV belonged to Group II NPV.

Key words *Clanis bilineata* Nuclear Polyhedrosis Virus; F protein; Sequence; Analysis; gp64 gene

豆天蛾(*Clanis bilineata tianingauica* Mill, 又称豆青虫)是以幼虫咬食豆类植物、刺槐、洋槐等叶片为生的昆虫。近年来该虫的为害面积不断扩大, 在生产上已引起重视。杆状病毒是一类主要以鳞翅目昆虫为宿主的有囊膜的双链 DNA 病毒, 是农林重要害虫的自然控制因子^[1], 目前, 许多国家都在致力于以杆状病毒作为杀虫剂而取代化学农药的研究。杆状病毒科包括核多角体病毒属(Nucleopolyhedrovirus, NPV)和颗粒体病毒属(Granulovirus, GV), 分子进化研究将鳞翅目昆虫的 NPV 进一步划分为组 I 和组 II 2 个种群^[2-4]。组 I NPV 包括苜蓿银纹夜蛾核多角体病毒(*Autographa californica* MNPV, AcMNPV), 家蚕核多角体病毒(*Bombyx mori* NPV, BmNPV)和黄杉毒蛾核多角体病毒(*Orygia pseudtsugata* MNPV, OpMNPV)等; 组 II NPV 包括棉铃虫核多角体病毒(*Helicoverpa armigera* SNPV, HsSNPV), 舞毒蛾核多角体病毒(*Lymantria dispar* MNPV, LdMNPV), 甜菜夜蛾核多角体病毒(*Spodoptera exigua* MNPV, SeMNPV)等。

杆状病毒宿主域仅限于无脊椎动物。它与其他动物病毒在发育和循环上有明显的不同, 即它的发育循环明显地包含 2 个独特的时相, 在第 1 时相, 杆状病毒通过细胞质膜出芽, 获得以糖蛋白为主要成分的囊膜。囊膜糖蛋白能特异的与昆虫血体腔内的多种组织细胞相互作用^[1], 这个作用对病毒粒子在虫体内的传播和在体外增殖体系的细胞间传播中是不可或缺的。囊膜蛋白在组 I 和组 II 2 个种群间具有显著差别。杆状病毒的 BV 编码 2 种膜融合蛋白: GP64 和 F 蛋白。组 I NPV 的 BV 使用 GP64 作为其膜融合蛋白, 该蛋白对 BV 有效出芽和病毒感染的传播是必需的; 而组 II NPV 和 GV 没有 GP64 蛋白, 却使用另一类称为 F 蛋白的膜融合蛋白。因而膜融合蛋白的研究是合理利用杆状病毒的重要方向。

豆天蛾核型多角体病毒(*Clanis bilineata* Nuclear Polyhedrosis Virus, CbNPV)是豆天蛾的重要病原物, 最近已对 CbNPV 进行了全基因组测序。在相似性比较分析中, 发现一长度为 2 109 bp 的开放阅读框序列与 F 蛋白基因同源性很高。F 蛋白是组 I NPV 和组 II NPV 出芽病毒的主要糖蛋白, 它在缺少 GP64 的组 II NPV 中行使 GP64 的重要功能, 这些功能已经在 Ijkel 和 Lung 等对 LdMNPV、SeMNPV 和 HsSNPV 的研究中得到证实^[5]。笔者对 CbNPV F 蛋白基因结构和系统进化地位进行研究, 并对 F 蛋白基因序列进行了全面分析。

1 材料与方法

1.1 材料 豆天蛾发病幼虫采自浙江省湖州市菱湖镇农田。

1.2 方法

1.2.1 CbNPV 多角体的纯化及 DNA 的提取。 感染的病虫体经研磨后, 加灭菌去离子水稀释过滤, 并通过蔗糖梯度离心纯化。将纯化的病毒粒子悬于裂解液(0.1 mol/L Na₂CO₃, 0.15 mol/L NaCl, 0.01 mol/L EDTA, pH 值 10.8), 室温放置至溶液清亮, 加入 SDS 和蛋白酶 K 37 ℃ 下消化过夜。消化液分别经酚、酚/氯仿、氯仿抽提后, 经乙醇沉淀得到 CbNPV 多角体 DNA。沉淀溶于 2.0 mmol/L Tris (pH 值 8.0) 缓冲液中, 4 ℃ 备用。

1.2.2 CbNPV 全基因组序列测定。 采用 Shotgun 的方法构建 CbNPV 的 DNA 文库, 在上海人类基因组测序中心完成。

1.2.3 计算机分析。 测定的 F 蛋白基因序列利用 BLAST 与 GenBank 数据库进行比较; 用 NetOGyc 及 NetNGyc 软件(ExPASy)在线分析 O 糖苷化位点及 N 糖苷化位点; 用 SignalP 软件(ExPASy)在线分析分泌信号肽序列; 用 ProtScale 软件(ExPASy)在线分析疏水结构; 用 TMHMM 软件(ExPASy)在线分析跨膜结构; 并从 WWW.PDBL.ibcp.fr 网站在线分析蛋白二级结构; 再用 DNASTar 软件包中 MegAlign 软件的 By Jotun Hein Method 对核苷酸及氨基酸序列进行同源性比较, 并构建分子进化树。

基金项目 江苏省六大人才高峰基金项目(2005-农21); 江苏大学自然科学创新预研基金项目(04CX08)。

作者简介 庞俊星(1982-), 男, 山东菏泽人, 硕士研究生, 研究方向: 分子病毒学。* 通讯作者, E-mail: wenbingwang@uj.s.edu.cn。

收稿日期 2006-05-08

2 结果与分析

2.1 CbNPV F 蛋白基因序列分析 序列分析表明,CbNPV F 蛋白基因的读码框由2 109 个核苷酸组成,编码702 个氨基酸,分子质量约为80.69 kDa。其中,带负电的天冬氨酸和谷氨酸残基总数为94,带正电的精氨酸和赖氨酸残基总数为81。转录起始位点上游129 bp 处具有晚期基因保守的转录基序ataag,在转录起始位点上游57 bp 处有特征性的早期转录基序cgtgc。翻译后修饰分析表明,CbNPV F 蛋白基因第96 位(NCST)、481 位(NVTR)、517 位(NLSA)和560 位(NNTV)为4 个N 连接的GcNAc 糖基化位点,序列中没有O 连接的GcNAc 糖基化位点;1~23 个氨基酸是分泌信号肽序列(如图1 中方框标出部分)。初级结构分析表明,该序列在4~24 和595~610 存在2 个疏水性区域,并且在第606 位氨基酸疏水性达到最高值3.229;在658~691 存在1 个亲水性区域,并在第676 位氨基酸亲水性达到最高值3.124(如图1 中波浪线标出部分)。

Atatgaggcaatttgggttatctctaataatctaataagagaacggagacgacgattggttgatcgtt
aatgaaattctactactgttttagtatataacttacagcgtgctgtttaaccggcattgcaagagaatt
ttggttgaatcacaatagtttacaag
atggcgatcaatattctttaccggctagagttagctatggctctggaccgtatcgtta 60
MAINL L L P A R V I A M V W T V S L
gtgtctgcatcacggtctctagacctcaagacgtaattgacgttcatcctttgacctcat 120
V S A I T V S R P Q D V I D V H P L P H
acatcaggtttttctatcagccaatcaacaaaatgcaattcgttgaagacgtttggcac 180
T S G F F Y Q P I N K M Q F V E D V W H
tttatcattgaaatggaccatggcgacatatttttgaactgaactcgtctactcggaa 240
F I I E M D H G D I F F E L N S L Y S E
acgaacgagctaatcagataatcgacaagcggccagagtttaaaaattgttccaccgcc 300
T N E L I R Y I D K R P E F K N C S T A
Aagattgtgcaagaagaattgattcg.....
K I V R K E I D S A G T G T I S G K
... .. A G T G T I S G K
aatgtcaccctgctcctgtaaaatagtcactaaaaagtagaattgagtttgcacagctt 1500
NVTR P C K L V T K K V E L S L H Q L
aaaaatagtttgtttctgtgtcgtctgtgcccatttcgacctttaaactgagcggc 1560
K N S L F S V S S V P I S T Y F N L S A
gcgttaggagatttagacaaatggaaatacagtcattacgtagcaataactgatttagat 1620
A L G D L D K L E I Q S L R S N T D L D
cacaanaacttacaggaatgactgaacgattaattgactctcgtcagcgaatgaacaac 1680
H K N L Q G M T E R L I D L R Q R M N N
aatacagttttcaacgctcaagaacggaattgtccaacaagaagaagcacgtttgt 1740
N T V F N A Q E T E L S N K E E S T F C
tggttagtagctttacaccgatcacttgtcatgcagcacaagcgtttttaataactatg 1800
W L I S F T P I T C H A A Q A E L I T M
gcctgtctaacagatattttgattgtgtatagaatctataaaactgctatgccaggttg 1860
A C L T V E L I V Y R I Y K L L C P G L
tggtcagacgctgtacttgtgtcgtgtgtgtcgtcgcgaatgaacttagcgtta 1920
C S D A C T C C C G L L S S R N E S S V
gtaaaagtcaacaatcgtttacattatctgaacaacaaccgcaaatgaatggagtgctc 1980
V K V N N R L H Y L N K Q P Q N E W S V
aagtagttaaaggcaagcaacaagtagacaacaagtagactatgaatagacgaagag 2040
K Y V K G K Q Q D D N N D D Y E Y D E E
tatgtagggaagaaaacatccattcaaacctaatcatcagcatcacaactgggcata 2100
Y G R E E K H P F K P N H O H H K L G I
tttgaataa 2109
F E
Attaaaatttataaaattatgtattatattttaagttgtacatatataataaaattatattaa
acattaatatatttt

注:杆状病毒的晚期基因转录起始位点用下划线标出。N 糖基化位点和信号肽序列由方框标出。亲水性疏水性区域用波浪线标出。中间省略号部分省略了330~1410 的碱基,基因全序列见GenBank,登录号为:AA59555。

图1 CbNPV F 蛋白基因的核苷酸序列和推导的氨基酸序列

2.2 F 蛋白基因的同源性比较 应用DNASTar 软件包中的MegAlign 软件对CbNPV 与典型的I 类核型多角体病毒:AcNPV、BmNPV、云杉卷叶蛾核型多角体病毒GfMNPV(Choris-

toneura fumiferana MNPV) 及II 类核型多角体病毒:舞毒蛾核型多角体病毒LdNPV(Lymantria dispar NPV)、茶小卷夜蛾核型多角体病毒AdhoNPV(Adoxophyes honmai nucleopolyhedrovirus)、甘蓝尺蠖核型多角体病毒TnNPV(Tri-choplusia ni SNPV) 等6 种鳞翅目昆虫F 蛋白基因的核苷酸序列及氨基酸序列进行同源性比较(6 种NPV F 蛋白基因的GenBank 登录号分别为,AcNPV:L 22858;BmNPV:L 33180;GfMNPV NP 848333;LdNPV:AF 081810;AdhoNPV:NP 818765;TnNPV:YP 309032)。结果表明,CbNPV 与AcNPV、BmNPV、GfMNPV、LdNPV、AdhoNPV 和TnNPV 中的F 蛋白基因氨基酸序列同源性分别为:15.9%、15.4%、17.0%、61.7%、47.8%和42.5%(表1)。同时对CbNPV 的F 蛋白基因序列与典型的I 类核型多角体病毒的gp64 基因序列进行同源性相比较,这些含gp64 基因的NPV 有:AcNPV、BmNPV、GfNPV、苹浅褐卷蛾核型多角体病毒EppoNPV(Epiphyas postvittana NPV)、黄杉毒蛾核型多角体病毒OpMNPV(Orgyia pseudtsugata multicapsid NPV) 和尺蠖核型多角体病毒RoMNPV(Rachiplusia ou multiple NPV), 同源性分别为:19.6%、18.9%、15.4%、15.2%、15.0%和19.8%(表2)。

表1 CbNPV F 蛋白与6 种NPV F 蛋白同源性的比较

Table with 7 columns: Cb, Ld, Adho, Tn, Gf, Ac, Bm. Rows show homology percentages for various NPV types.

注:表中病毒的名称均省去NPV 或MNPV。下表同。

表2 CbNPV F 蛋白与6 种NPV GP64 的同源性比较

Table with 7 columns: Cb, Ac, Bm, Gf, Eppo, Op, Ro. Rows show homology percentages for GP64 proteins.

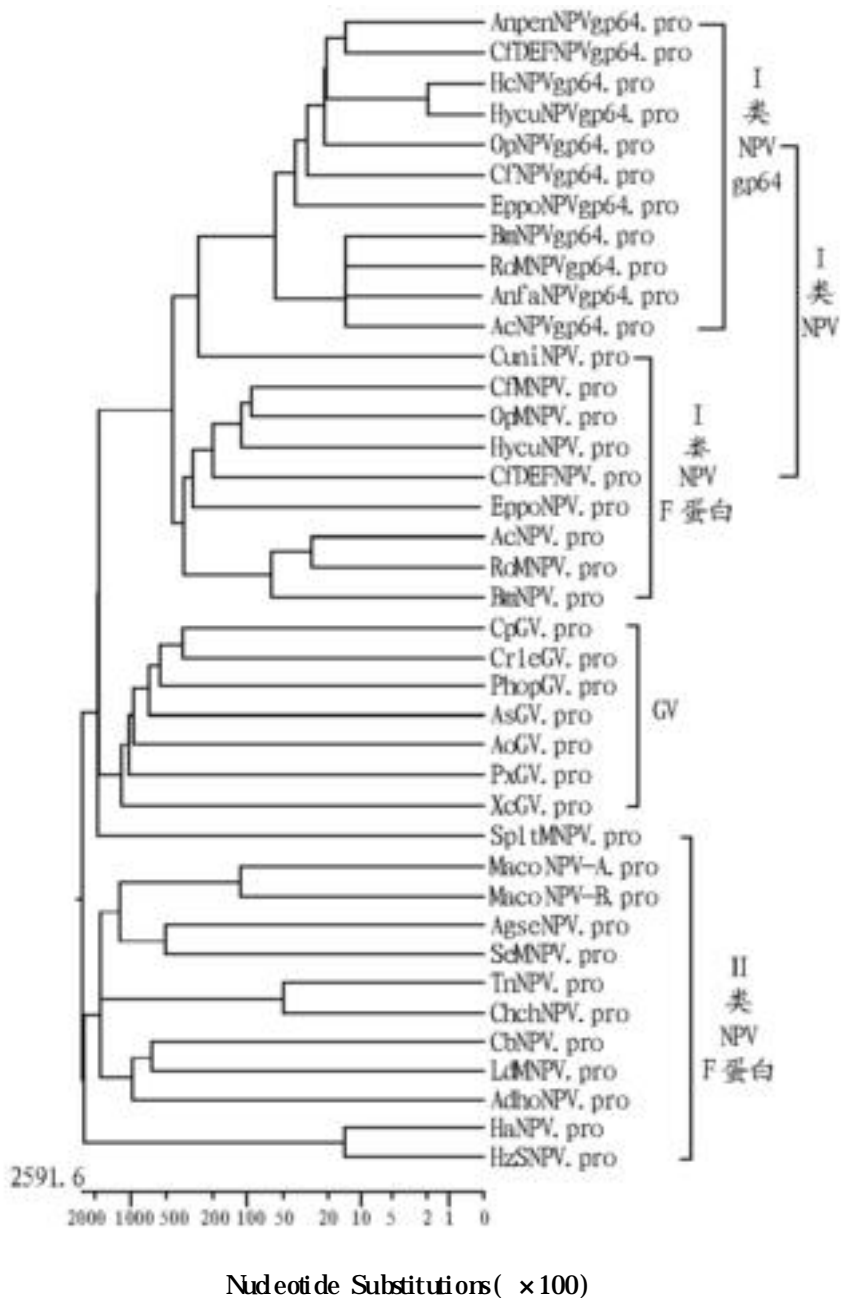
2.3 F 蛋白二级结构分析 对CbNPV F 蛋白氨基酸序列进行二级结构分析表明:存在23 个α-螺旋,15 个β-折叠以及25 个氨基酸残基侧链(在图中用E-Strand 表示);靠近C 端有一个保守的跨膜结构。另外,将该氨基酸序与LdNPV、AdhoNPV 和TnNPV 3 种鳞翅目昆虫NPV F 蛋白氨基酸序列比较分析,发现CbNPV F 蛋白氨基酸序列中还存在6 个保守的半胱氨酸残基及12 个脯氨酸残基(图2)。

2.4 根据F 蛋白氨基酸序列同源性构建分子进化树 对包括CbNPV F 蛋白基因在内的28 种昆虫杆状病毒的F 蛋白基因,以及已知全序列的11 种杆状病毒的GP64 蛋白的氨基酸序列进行同源性比较,结果表明:CbNPV F 蛋白氨基酸序列与I 类NPV 的同源性在8.0%~16.1%,与II 类NPV F 蛋白的同源性在32.9%~61.8%,与GV F 蛋白同源性在23.1%~25.3%,与I 类NPV GP64 蛋白的同源性在9.1%~11.4%。根据F 蛋白氨基酸序列的同源性,对相比较的39 种氨基酸序列构建分子进化树,见图3。

α-Helix	E-strand	α-Helix	E-strand	β-Turn	E-strand	#	α-Helix	
MAIN	I L L P A R V	I A M V W T	V S L V S A	I T V S R P Q D	V I D V	H P L P	H T S	G F F Y Q
								P I N K M Q F V E D V W
								H
60								
E-strand	β-Turn	α-Helix		E-strand	β-Turn		α-Helix	
F I I E M D	H G D I	F F E L N S L Y S E T N E L I R Y I	D K R P E F K N C S	T A K I V R	K E I	I D S F I L K	R I L T L V K	
120								
α-Helix	α-Helix	E-strand	β-Turn	α-Helix	E-strand			
H H N D I D	D K I S H K R	D R A P M Q L T T D D P	F K A V D	G G D V R	H R A K R G I L N F V G	T V D K F	L F G V M	D S N
180								
α-Helix		α-Helix		*			α-Helix	
D A D E L H R L	A K T S	N A L N Q Q V K E L T D E M I S I S R F I E H K Q C V E E Q R	A D L C V T I	N A K V A L I L E Q				
240								
α-Helix		α-Helix	β-Turn	#	α-Helix			
I N E I D T L Y T N L D R A V D D A L N N K I N S M	V M T	P E R L L K E M T D V T T H V	P L K	L T W P V P	L K L E N M H			
300								
α-Helix	E-strand	E-strand	#	α-Helix	E-strand	#	* β-Turn	E-strand
D L I N N H I I	K T H V F I	T N D R K L L F V L E I P L	I N Q Q T Y D	V Y Q V I P	I P Y C N	N D G K	C A V I	V P D S K Y
360								
E-strand		* α-Helix	*	α-Helix	β-Turn			
L G V S	S N K R N Y V R L E D D A P	K I C K M T T E N L L	C F A P K I I Y D S S Q A T	L C D I	K I L L K N	E D	D Y T K V	
420								
E-strand	E-strand	E-strand	β-Turn	E-strand	β-Turn	E-strand	β-Turn	
H K D	C D V R	V G K F D	T E I F	Y P I S E Y N N	W L Y V L	Q K D T	E I T F D	C G K D M N I S
480								
*	α-Helix	#	α-Helix					
N V T R P C	K L V T K K V E L S L H Q L K N S L	F S V S S V P I S	T Y F N L S A A L G D L D K L E I Q S L	R S N T D L D				
540								
α-Helix	β-Turn	E-strand	α-Helix	E-strand	α-Helix	E-strand		
H K N L Q G M T E R L I D L R Q R	M N N N	T V F N	A Q E T E L S	N K E E S	T F C W L I S	F T P I T C	H A A Q A F	L I T M
600								
α-Helix	E-strand	α-Helix	* β-Turn	α-Helix	E-strand	β-Turn	β-Turn	
A C L T	V F L I	V Y R I Y K	L L C P G	L C S D A C	T C C C G L	L S S R N E S S	V V K V	N N R L H Y L
660								
E-strand	β-Turn	E-strand		E-strand				
K Y V K	G K Q Q D D	N N D D	Y E Y D	E E Y G R E E K H P F K P N H Q H H	K L G I F E			
702								

注: 保守的脯氨酸和半胱氨酸位点分别用“#”和“*”表示。特殊的二级结构区域用方框标出; 跨膜区用双下划线标出。

图2 4种鳞翅目昆虫NPV F蛋白氨基酸序列的比较



注: 在图中以 gp64 为比较对象的均在病毒名称中标注, 未标注的均是以 F 蛋白为比较对象。

图3 39种杆状病毒F蛋白基因和GP64蛋白基因氨基酸序列分子进化树状图

3 讨论

杆状病毒是有囊膜的双链 DNA 大型病毒。在I 类 NPV

的囊膜中含有 GP64 蛋白, 在 II 类 NPV 如在 LdMNPV^[7]、SeMNPV^[8]、XcGV^[9] 的基因组的测序中发现这些病毒缺少 gp64 的同源基因。Ijkel 等鉴定了 SeMNPV 的膜融合蛋白 SE8^[5]。证明 SE8 是 LdMNPV 膜融合蛋白 LD130 的同源蛋白。Lung 等发现 LD130 和 SE8 都可拯救 gp64 缺失的 AcMNPV 的复制, 表明二者可替代部分 GP64 蛋白的重要功能^[6]。这样, LD130 及其同源蛋白 SE8 等被命名为 F(fusion) 蛋白^[6]。F 蛋白与 GP64 具有不同的结构, F 蛋白的同源序列在所有已测序杆状病毒包括具有 GP64 基因的 I 类 NPV 的基因组中均有发现。Pearson 推测, GP64 代表一个在系统发生中较晚获得的蛋白, 而 F 家族可能更为原始, GP64 在较晚时期并入杆状病毒基因组, 取代了 F 的膜融合功能并促进了那些用 GP64 行使膜融合功能的近亲病毒的进化和 F 膜融合功能的丧失, 而 F 却由于其他重要的功能被保留^[11](gp64 的存在或许为组 I NPV 提供了一种选择优势^[11])。该 F 蛋白不具备低 pH 介导的膜融合活性, 为了和 II 类 NPV F 蛋白相区别, Pearson 和 Rohmann 又将组 II NPV 的 F 蛋白命名为 Fa, 而组 I NPV 的无膜融合活性 F 同源蛋白命名为 Fb^[10]。另外, 尽管组 II NPV 的 F 蛋白(LD130, SE8) 可拯救 GP64 的缺失, 但是 PxGV(*Rutella xylostella grandovirus*) 的 F 蛋白却不能^[12]。目前也还没有 GP64 替代 F 蛋白功能的报道。

对 CbNPV F 蛋白基因序列的翻译后修饰分析、初级结构分析和二级结构分析的结果表明, 该序列既含有早期转录基序 cgtgc, 又含有晚期转录基序 taag, 说明 F 蛋白在病毒生长的早期和晚期均表达, 这点和组 I NPV 的 GP64 蛋白是相似的。在组 I NPV 的结构蛋白中, gp64 是唯一发现具有早期与晚期启动子的基因。CbNPV F 蛋白序列在 N 末端最初 1~23 位氨基酸还含有一个疏水性的分泌信号肽序列, 这点与组 I NPV 的 GP64 蛋白也是相似的(GP64 蛋白在 N 末

端最初 17 ~20 位是疏水性的分泌信号肽序列^[11]。CbNPV F 蛋白序列在 C 末端 595 ~610 位有一个疏水性区域,而在 591 ~613 位是一个跨膜结构区域,所以在 C 末端有一个疏水性跨膜支撑序列即锚定结构域,与其紧密相连的是一段亲水性区域(在 658 ~691 位),这种结构决定了 CbNPV F 蛋白和其他已鉴定的组 II NPV 的 F 蛋白(LD130, SE8)一样具有膜融合活性,并且这种结构和 GP64 蛋白也极为相似。另外,CbNPV F 蛋白序列还含有 4 个 N 糖基化位点,F 蛋白的糖基化对囊膜蛋白掺入病毒离子是必需的。

对以 CbNPV F 蛋白为代表的 Fa、Fb 和 GP64 氨基酸序列分析结果可以看出,CbNPV F 蛋白基因序列和 II 类 NPV F 蛋白的同源性(32.9% ~61.8%)远远大于其和 I 类 NPV F 蛋白的同源性(8.0% ~11.6%)。因此可以推断,CbNPV 属于 II 类 NPV。并且 CbNPV F 蛋白与 LdNPV F 蛋白(LD130)同源性达 61.8%,而与其他已知 II 类 NPV F 蛋白的同源性均在 32% ~48%,所以推测 CbNPV F 蛋白应和 LD130、SE8 属于同一类 F 家族。CbNPV F 蛋白与 I 类 NPV GP64 的同源性和其与 Fb 的同源性均在 17% 以下,因此,CbNPV F 蛋白与两者的亲缘关系都很差,从进化树状图上看 Fb 和 GP64 的亲缘关系更进一些。

因此 F 蛋白与 GP64 相关性研究有助于揭示杆状病毒的分子进化和对 BV 膜融合蛋白功能的深入、全面的了解,是近年来杆状病毒膜融合蛋白领域的研究热点。杆状病毒作为农业鳞翅目害虫的主要自然控制因子,其在生物杀虫剂的开发和应用上有着广阔的前景。

参考文献

- [1] 吕鸿声. 昆虫病毒分子生物学[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1998: 149 - 151.
- [2] ZANOTTI M, SAMPAIO MJ, JOHNSON DW, et al. The *Articasia gemmatalis* nuclear polyhedrosis virus polyhedrin gene region: sequence analysis, gene product and structural comparisons[J]. *J Gen Virol*, 1992, 73: 1049 - 1056.
- [3] BULACH DM, KUMAR CA, ZAIA A, et al. Group II nucleopolyhedrovirus subgroups revealed by phylogenetic analysis of polyhedrin and DNA polymerase gene sequences[J]. *J Invertebr Pathol*, 1999, 73: 59 - 73.
- [4] HERNIOUE A, LUQUE T, CHEN X, et al. Use of whole genome sequence data to infer baculovirus phylogeny[J]. *J Virol*, 2001, 75: 8117 - 8126.
- [5] IJKELF WF, WESTENBERG M, GOLDBACH RW, et al. A novel baculovirus envelope fusion protein with a proprotein convertase cleavage site[J]. *Virology*, 2000, 275: 30 - 41.
- [6] LUNG O, WESTENBERG M, VLAKJ M, et al. Pseudotyping *Autographa californica* multicapsid nucleopolyhedrovirus (AcMNPV): F proteins from group II NPVs are functionally analogous to AcMNPV GP64[J]. *Virology*, 2002, 76: 5729 - 5736.
- [7] KUZIOJ, PEARSON MN, HARWOOD SH, et al. Sequence and analysis of the genome of a baculovirus pathogenic for *Lynantia dispar*[J]. *Virology*, 1999, 253: 17 - 34.
- [8] IJKELF WF, VAN STRIENE A, HELDENS JG, et al. Sequence and organization of the *Spodoptera exigua* multicapsid nucleopolyhedrovirus genome[J]. *J Gen Virol*, 1999, 80: 3289 - 3304.
- [9] HAYAKAWA T, KO R, OKANO K, et al. Sequence analysis of the *Xestia nigrum* granulovirus genome[J]. *Virology*, 1999, 262: 277 - 297.
- [10] PEARSON MN, ROHRMANN GF. Transfer, incorporation, and substitution of envelope fusion proteins among members of the *Baculoviridae*, *Orthomyxoviridae*, and *Mutaviridae* (insect retrovirus) families[J]. *J Virol*, 2002, 76: 5301 - 5304.
- [11] PEARSON MN, GROTEN C, ROHRMANN GF. Identification of the *Lynantia dispar* nucleopolyhedrovirus envelope fusion protein provides evidence for a phylogenetic division of the *Baculoviridae*[J]. *J Virol*, 2000, 74: 6126 - 6131.
- [12] MANGOR JT, MONSMA SA, JOHNSON MC, et al. A GP64 null baculovirus pseudotyped with vesicular stomatitis virus G protein[J]. *J Virol*, 2001, 75: 2544 - 2556.