

杆状病毒出芽病毒粒子膜融合蛋白的研究进展*

王 舒, 袁 丽, 胡志红**

(中国科学院武汉病毒研究所 无脊椎动物病毒学开放实验室和分子病毒学重点实验室, 湖北武汉 430071)

Recent Advances on Envelope Fusion Proteins of Baculoviral Budded Viruses

WANG Shu, YUAN Li, HU Zhi-hong**

(Joint Laboratory of Invertebrate Virology and the Key Laboratory of Molecular Virology, Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430071, China)

关键词: 膜融合蛋白; GP64; F 蛋白; F 同源蛋白; 杆状病毒

中图分类号: S852.65

文献标识码: A

文章编号: 1003-5152(2004)01-0082-05

杆状病毒是一类感染节肢动物的病原微生物, 其基因组为双链环状 DNA, 大小为 80~180kb。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), 其中 NPV 根据病毒粒子在包膜中的粒子数目不同而划分为多核衣壳核多角体病毒(multiple nucleocapsid NPV, MNPV)和单核衣壳核多角体病毒(single nucleocapsid NPV, SNPV)。分子进化研究将 NPV 划分为组 I 和组 II 两个种群(group)^[1-3]。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(*Orgyia pseudotsugata* MNPV, OpMNPV)等, 组 II NPV 包括棉铃虫核多角体病毒(*Helicoverpa armigera* SNPV, HaSNPV), 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。感染昆虫后, 杆状病毒在敏感组织细胞内复制, 产生出芽病毒(budded virus, BV)和多角体来源的病毒(occlusion derived virus, ODV)。BV 以出芽的方式释放到细胞间质, 在不同的细胞、组织间传递感染, 最终导致宿主死亡。ODV 被多角体包裹, 在种群中作横向和纵向传递。BV 一般以受体介导的吸附内吞方式进入细胞, 而 ODV 是通过病毒囊膜与肠壁细胞膜直接融合而进入细胞的。二者之间功能的差别很大程度上取决

于病毒粒子的表面结构, 主要包括囊膜蛋白。在出芽病毒粒子中, 两类不同的膜融合蛋白已被鉴定, 组 I NPV 的 BV 以 GP64 作为其膜融合蛋白, 而组 II NPV 和 GV 没有 GP64, 却使用另一类称为 F 的膜融合蛋白。

1 膜融合蛋白 GP64

1.1 GP64 的结构

GP64 是 AcMNPV 和其它组 I 出芽病毒的主要糖蛋白, 主要以二硫键相连三聚体的形式存在于棒状 BV 粒子的一端, 形成典型的膜粒结构。AcMNPV 的 GP64 有 512 个氨基酸, 具 N 端信号肽, 司靶向 GP64 至质膜, 并有一个 C 端的疏水跨膜区。GP64 的两个功能域已被鉴定: 位于预测的 α 螺旋区的寡聚化结构域(Oligomerization domain), 司 GP64 的寡聚化与转运; 及作为疏水簇一部分的融合结构域(Fusion domain) (图 1)^[4]。研究发现, GP64 有 4 个位点被糖基化, 消除一个或多个糖基化位点, 降低了与细胞的结合速率^[5]。

1.2 gp64 基因的表达特点

杆状病毒基因的表达是一个转录级联事件, gp64 基因表达的特点是被双相启动子调节, 在 AcMNPV 和 OpMNPV 的基因组中, gp64 均含有一个早期启动子和 2 个晚期启动子^[6]。有研究者改造了 gp64 的启动子, 构建了只在晚期表达 GP64 的重组 AcMNPV, 口服感染虫体, 发现野生型病毒有更

收稿日期: 2003-07-07, 修回日期: 2003-09-01

* 基金项目: 国家自然科学基金资助(30025003); 中国科学院知识创新工程项目资助(Kscx2-1-02, Kscx2-SW-301-09); 937 项目(2003CB114202)

作者简介: 王舒(1978-), 男, 北京籍, 从事杆状病毒研究。

** 通讯作者。Corresponding author. Tel: 027-87197180, E-mail: huzh@pentium.whiov.ac.cn

强的毒力, 而且更早的启动二次感染。但是, 经胸腔注射, 感染性和毒力是相同的。推测 GP64 的早期合成有助于克服宿主防御性的中肠上皮细胞脱

落反应, 加速了 MNPV 的二次感染。而这种早期表达结合多核衣壳的包装正是杆状病毒独特的, 高适应性的感染策略^[7]。

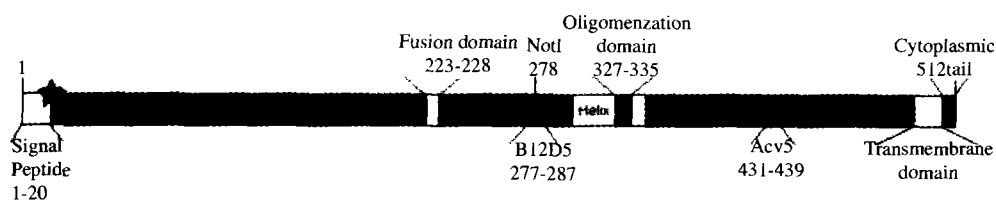


图1 AcMNPV GP64 的结构 (自 Grabherr, 2001)

Fig.1 The structure of GP64 protein (Grabherr, 2001)

1.3 GP64 与细胞受体的结合

病毒受体是病毒宿主范围和组织嗜性的一个重要因素, 研究 GP64 受体的结构组成及与病毒作用机制等, 对了解病毒感染过程和致病机理十分重要。研究表明 GP64 是一个受体结合蛋白, 二硫键对 GP64 的受体结合是必要的, 即天然的 GP64 三聚体是受体结合的必然形式^[8], 通过研究病毒-受体相互作用的 Far-Western blot 技术, 未检测到 GP64 与昆虫细胞的膜蛋白结合^[9], 结合以前的研究结果, 表明 GP64 的受体不是蛋白质。近年来发现 AcMNPV 的 BV 可侵入哺乳动物细胞^[10]。磷脂在具包膜病毒的结合或进入细胞过程中的作用已有报道, 研究发现 GP64 和磷脂在细胞表面的相互作用在杆状病毒感染哺乳动物细胞中起重要作用^[11], 但作用机制还有待阐明。

1.4 GP64 介导的膜融合

GP64 具有 pH 依赖的膜融合活性^[12], 在 BV 以吸附内吞方式进入细胞过程中, 在内吞体 (endosome) 低 pH 诱导下, 构象发生变化引发 BV 包膜与内吞体膜的融合从而释放核衣壳进入胞质^[4,13,14]。Hefferon 发现在 AcMNPV BV 与 Sf9 细胞结合 10~20min 后, 病毒粒子进入内吞体, 与细胞结合 15~30min 后从内吞体中释放^[8]。GP64 介导的膜融合明显依赖于膜脂质的组成, 研究结果支持一个“茎柄”(stalk)中间体的假说^[15]。

在 AcMNPVGP64 的近寡聚结构域有一个预测形成两亲 α -螺旋的 4~3 七氨基酸重复 (4~3 heptad repeat, 简称 HR)^[4], 研究表明该特定序列在 GP64 介导的膜融合过程中起重要作用。Plonsky 和 Zimmerberg^[16]根据杆状病毒感染的 Sf9 细胞的电生理学实验提出, 一个由 5~7 个 GP64 三聚体形成的环可能作为一个融合机器, 促进环内融合孔的开放。Markovic 等发现在膜融合位点, GP64 三聚体瞬时形成的环状复合体介导膜融合^[14]。此结构限制了脂质

的迁移, 允许从激活后融合蛋白构象变化释放的能量转化于脂质克服能域, 重新分布形成连续性的脂, 最后, 融合孔形成并扩大, 完成膜的融合。

1.5 GP64 介导的病毒粒子出芽

研究表明 GP64 对 BV 侵染细胞和子代核衣壳有效的出芽释放都是必需的^[17]。采用 RNA 干扰技术, 沉默 *gp64* 的表达, 可在体外, 体内抑制 AcMNPV 的感染^[18]。近年发现质膜上存在有具特殊化学组成及特性的局限性结构域, 称为脂质微区, 又称脂筏 (lipid raft), 在许多被膜病毒中, 是病毒出芽的场所^[19]。一些证据表明 GP64 并入病毒粒子似乎依赖于流感病毒和 HIV-1 出芽位点所见的脂筏^[20]。

2 F 蛋白

2.1 F 蛋白的发现

尽管 GP64 在组 I NPV 中普遍存在, 但 LdMNPV^[21], SeMNPV^[22], XcGV^[23]的基因组的测序发现这些病毒缺少 *gp64* 的同源基因。计算机分析 LdMNPV 基因组发现 ORF130 的编码产物具有膜融合蛋白的特征, 转染表达 *ld130* 的质粒可在细胞中诱导融合。荧光显微镜观察发现 LD130-egfp 融合蛋白定位在转染细胞的质膜上, 这与膜融合功能是相吻合的。Western blot 分析揭示, LD130 分子量为 83 kDa, 是 BV 的组成成分。

Ijkel 等鉴定了 SeMNPV 的膜融合蛋白 SE8^[24]。SE8 是 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, 尽管滴度远远低于野生型病毒, 表明二者可替代部分 GP64 的重要功能^[25]。这样, LD130 及其同源蛋白 SE8 等被命名为 F (fusion) 蛋白^[25]。本实验室在组 II 的 HaSNPV 中鉴定了其 F 蛋白 HA133。研究表明 HA133 能拯救 GP64 缺失的 AcMNPV 并实现功能互补 (龙钢, 个人通讯)。

在 SE8 的研究中,发现 SE8 先被表达成 76 kDa 前体蛋白,然后通过细胞内的弗林蛋白酶(furin)在保守的切割位点(Arg-X-Lys/Arg-Arg↓X)切割成 60kDa 的 F1 和 21kDa 的 F2 两个片段。通过 furin 抑制剂和突变分析证明 SE8 的切割对其膜融合功能是必需的^[26],对 Se8 拯救 GP64 缺失的 AcMNPV 也是必要的^[25]。Furin 切割似乎是活化病毒融合蛋白的一个普遍的机制。许多脊椎动物病毒的膜融合蛋白被 furin 所切割,产生二硫键相连的亚单位。SE8 的酶切产物 F1 和 F2 被二硫键相连,而二硫键不涉及 F 的寡聚化^[26]。HA133 的研究结果显示 F1 (62kDa) 和 F2 (20kDa) 同时存在于 HaSNPV BV 中,并以二硫键结合成 F0 (~80kDa) (龙钢,个人通讯)。

杆状病毒 F 蛋白在结构上非常类似于副粘病毒科的融合蛋白,二者均由二硫键相连的一个小的 N-端亚单位和一个大的 C-端膜锚定亚单位构成。尽管整体的同源性不是很高,预测的结构域如 α -螺旋和 β 片层,以及 furin 切割位点,七氨基酸重复(Heptad repeat, HR),和跨膜区结构是较保守的,可能形成相似的高级结构。此外,副粘病毒科的融合蛋白含有一个位于膜锚定亚单位 N-端的融合肽,可插入靶膜,进而通过形成三聚的发卡样结构的 HR1 和 HR2 的作用,使病毒包膜与靶膜融合。F 蛋白在相似位置也有一个推测的融合肽和 2-3 个 HR。进一步研究正在进行以证实这些 HR 对膜融合功能是否必要。

2.2 F 蛋白的同源性及其进化

与 GP64 同源序列高度保守不同,F 蛋白家族的分歧较大。此外,GP64 只分布在几种近亲杆状病毒,所有被归为组 II 的 NPV 缺少 GP64^[1, 2, 27],而 *ld130* 的同源序列在所有已测序的杆状病毒基因组中均有发现,包括具有 GP64 的病毒。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 却由于其它重要的功能被保留,GP64 的存在或许为组 INPV 提供了一种选择优势^[28]。

为了与组 II NPV 的 F 蛋白(SE8, LD130)区分,组 I NPV 的 F 如 AcMNPV 的 AC23, OpMNPV 的 OP21 等被称为 F 同源蛋白(F homolog)。由于 AC23 和 OP21 均未检测到低 pH 介导的膜融合活性,Pearson 和 Rohrmann 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^[29]。OP21 是一个 N-糖基化的膜蛋白, NP40 溶解 BV 包膜,发现 OP21 似乎对核衣壳有更强的亲和力,相对 GP64 的只有 7 个氨基酸的胞质尾区(CTD),OP21 有 72 个氨基酸,推测 OP21 涉及包膜与衣壳的相互作用^[30]。研究表明,AC23 也出现在 BV 包膜上,对于病毒复制或对细胞培养和宿主的致病是非必需的,但加速了感染昆虫的死亡。尽管 SE8 可替代 GP64 的膜融合功能,但不能拯救 AC23 缺失引起的延迟死亡的表型。因此,AC23 代表了一个重要的病毒致病因子^[31]。比较发现对组 II NPV 和 GV 的 F 蛋白(SE8, LD130, XC27, PX26)十分重要的保守 furin 切割位点在 F 同源蛋白 AC23, OP21 中并不存在。以上证据表明 AC23, OP21 也有可能组 I NPV 的其他 F 同源蛋白起着不同于 GP64 和组 II NPV F 蛋白的作用,即不是功能同源的^[25]。

以前基于 GP64 与正粘病毒科的 *Thogoto* 病毒包膜融合蛋白 GP75 的氨基酸序列一致性及其功能上的相似性,推测二者起源于共同祖先^[32]。但 GP75 并不能拯救 *gp64* 缺失的 AcMNPV,可能由于 GP75 在 Sf9 细胞中没有功能^[25]。而与 GP64 和 F 蛋白无序列相似性的水泡性口炎病毒(VSV)G 糖蛋白却可拯救 *gp64* 的缺失^[33]。尽管组 II NPV 的 F 蛋白(LD130, SE8, HA133)可拯救 GP64 的缺失,但是 PxGV 的 F 蛋白却不能。目前还没有 GP64 替代 F 蛋白的报道。

3 BV 膜融合蛋白的应用

3.1 GP64 在杆状病毒表面展示中的应用及改良

Boublik 最早描述了基于 GP64 骨架的杆状病毒表面展示的策略^[34]。当外源蛋白被融合在 GP64 另一个拷贝的 N 端合适位点,它与野生型 GP64 竞争性地一起被包装并展示在杆状病毒粒子和被感染细胞表面,这种外源蛋白的展示效率是有限的。而 Ernst 在单一拷贝的 *gp64* 的天然 Not I 位点直接插入链霉亲和素结合肽也获得成功,获得的有感染性的病毒滴度可达野生型水平,由于每一拷贝 GP64 都融合有靶肽,更大程度的展示了外源蛋白和活性肽^[35]。随后,Spenger 等将单抗 2F5 特异性识别的 HIV-1 GP41 的 ELDKWA 肽插入到 *gp64* 的 17 个计算机预测的最适位点,其中 13 个位点的插入仍可产生有感染性的病毒,扩大了表面展示位点的选择性^[36]。Lindley 等用杆状病毒展示系统结合杂交瘤技术产生了核受体 LXR 和 FXR 的单抗,比较传统的免疫策略,这个系统有许多优势^[37]。最近, Tanaka 等也用该方法

产生了人过氧化物酶增生因子活化受体 (PPAR) 单抗^[38], 可见这种方法在单抗制备上的良好应用前景。Tami 等构建了展示口蹄疫病毒 (FMDV) C3 血清型的多蛋白前体 P1 和 A 抗原位点的重组杆状病毒, 并在昆虫细胞中进行了有效表达。由于其多价抗原特点, 可诱导强免疫反应^[39]。

3.2 GP64 在基因治疗中的应用

AcMNPV 可侵入哺乳动物细胞, 并在外源启动子控制下有效地表达外源基因的发现^[10,40], 开辟了杆状病毒作为基因治疗载体的新领域。靶向性是成功的基因治疗的关键和要求。通过病毒的“表面工程”, 对囊膜蛋白加以修饰, 如有效的展示结合哺乳动物细胞受体或介导病毒进入的肽, 使特异性的细胞靶向成为可能。Mottershead 融合对癌胚抗原 (CEA) 特异性单链抗体 (scFv) 编码区至 GP64 N 末端, 展示这些 scFvs 的病毒粒子可特异性地结合相应抗原, 表明这种修饰的病毒粒子可用在体内靶向那些表达 CEA 抗原的肿瘤细胞^[41]。另外通过与 GP64 N-端融合, 构建一个展示合成的 A 蛋白的免疫球蛋白 G (IgG) 结合区-Z 域的病毒, 可靶向有针对特异性抗原的抗体的任何细胞^[42]。补体逃逸是病毒体内基因转移载体的另一重要的特征。促衰变因子 (DAF) 可抑制补体攻击单位的活化。有研究者将 DAF 功能域与 GP64 融合, 融合蛋白有效的展示在杆病毒状表面, 在体外实验中, 杆状病毒的转导活性得到保护^[42]。最近报道, 为了增强慢病毒载体的靶向范围, 构建组成性表达 GP64 的 293T 包装细胞系, 可大量产生 GP64 假型的慢病毒, 用于遗传病的基因治疗。与以前 VSV G 蛋白假型的慢病毒有相似的滴度和同样广泛的细胞向性, 可作为有细胞毒性的 G 蛋白的替代^[43]。

4 展望

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。另外, 杆状病毒膜融合蛋白的应用研究进展非常迅速, 从当前的发展趋势来看, 杆状病毒表面展示在药物筛选, 配体筛选, 抗原展示, 研究蛋白质相互作用, 和改变病毒的细胞向性和宿主范围等方面显示出良好的应用前景, 是噬菌体表面展示和酵母表面展示的有益补充。可以设想, 随着研究的深入, 通过抗原在 BV 表面的表达, 重组基因工程 BV 有作为一种新型疫苗潜力。理论上, 杆状病毒由于其高效的展示系统, 也可应用于抗体库领域,

高效的转座系统是杆状病毒在抗体库构建上的一大优势, 这方面的探索是极有益的。

参考文献

- [1] Zanotto P M, Sampaio M J, Johnson D W, *et al.* The *Anticarsia gemmatilis* nuclear polyhedrosis virus polyhedrin gene region: sequence analysis, gene product and structural comparisons[J]. *J Gen Virol*, 1992, 73: 1049 - 1056.
- [2] Bulach D M, Kumar C A, 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.
- [3] Hermiou E A, Luque T, Chen X. *et al.* Use of whole genome sequence data to infer baculovirus phylogeny[J]. *J Virol*, 2001, 75: 8117-8126.
- [4] Monsma S A, Blissard G W. Identification of a membrane fusion domain and an oligomerization domain in the baculovirus GP64 envelope fusion protein[J]. *J Virol*, 1995, 69: 2583-2595.
- [5] Jarvis D L, Wills L, Burow G, *et al.* Mutational analysis of the N-linked glycans on *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus gp64[J]. *J Virol*, 1998, 72: 9459-9469.
- [6] Blissard G W, and Rohrmann G F. Location, sequence, transcriptional mapping, and temporal expression of the gp64 envelope glycoprotein gene of the *Orgyia pseudotsugata* multicapsid nuclear polyhedrosis virus[J]. *Virology*, 1989, 170: 527-555.
- [7] Washburn J O, Trudeau D, Wong J F, *et al.* Early pathogenesis of *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus and *Helicoverpa zea* single nucleopolyhedrovirus in *Heliothis virescens*: a comparison of the 'M' and 'S' strategies for establishing fatal infection[J]. *J Gen Virol*, 2003, 84:343-351.
- [8] Hefferon K L, Oomens A G, Monsma S A, *et al.* Host cell receptor binding by baculovirus GP64 and kinetics of virion entry[J]. *Virology*, 1999, 258: 455-468.
- [9] Lu W, Chapple S D, Lissini O, *et al.* Characterization of a truncated soluble form of the baculovirus (AcMNPV) major envelope protein GP64[J]. *Protein Expr Purif*, 2002, 24: 196-201.
- [10] Hofmann C, Sandig V, Jennings G, *et al.* Efficient gene transfer into human hepatocytes by baculovirus vectors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 10099-10103.
- [11] Tani H, Nishijima M, Ushijima H, *et al.* Characterization of cell-surface determinants important for baculovirus infection[J]. *Virology*, 2001, 279: 343-353.
- [12] Blissard G W, Wenz J R. Baculovirus GP64 envelope glycoprotein is sufficient to mediate pH-dependent membrane fusion[J]. *J Virol*, 1992, 66: 6829-6835.
- [13] Kingsley D H, Behbahani A, Rashtian A. *et al.* A discrete stage of baculovirus GP64-mediated membrane fusion[J]. *Mol Biol Cell*, 1999, 10: 4191-4200.
- [14] Markovic I, Pulyaeva H, Sokoloff A, *et al.* Membrane fusion

- mediated by baculovirus GP64 involves assembly of stable GP64 trimers into multiprotein aggregates[J]. *J Cell Biol*, 1998, 143: 1155-1166.
- [15] Chernomordik L, Leikina E, Cho M S, *et al*. Control of baculovirus gp64-induced syncytium formation by membrane lipid composition [J]. *J Virol*, 1995, 69: 3049-3058.
- [16] Plonsky I, Zimmerberg, J. The initial fusion pore induced by baculovirus GP64 is large and forms quickly[J]. *J Cell Biol*, 1996, 135: 1831-1839.
- [17] Monsma S A, Oomens A G, Blissard G W. The GP64 envelope fusion protein is an essential baculovirus protein required for cell-to-cell transmission of infection[J]. *J Virol*, 1996, 70: 4607-4616.
- [18] Valdes V J, Sampieri A, Sepulveda J, *et al*. Using double-stranded RNA to prevent in vitro and in vivo viral infections by recombinant baculovirus[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 19317-19324.
- [19] Pickl W F, Pimentel-Muinos F X, Seed B. Lipid rafts and pseudotyping[J]. *J Virol*, 2001, 75: 7175 - 7183.
- [20] Chapple S D, Jones I M. Non-polar distribution of green fluorescent protein on the surface of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus using a heterologous membrane anchor[J]. *J Biotechnol*, 2002, 95: 269-275.
- [21] Kuzio J, Pearson M N, Harwood S H, *et al*. Sequence and analysis of the genome of a baculovirus pathogenic for *Lymantria dispar*[J]. *Virology*, 1999, 253: 17-34.
- [22] Ijkel W F, van Strien E A, Heldens J G, *et al*. Sequence and organization of the *Spodoptera exigua* multicapsid nucleopolyhedrovirus genome[J]. *J Gen Virol*, 1999, 80: 3289-3304.
- [23] Hayakawa T, Ko R, Okano K, *et al*. Sequence analysis of the *Xestia c-nigrum* granulovirus genome[J]. *Virology*, 1999, 262: 277-297.
- [24] Ijkel W F, Westenberg M, Goldbach R W, *et al*. A novel baculovirus envelope fusion protein with a proprotein convertase cleavage site[J]. *Virology*, 2000, 275: 30-41.
- [25] Lung O, Westenberg M, Vlak J M, *et al*. Pseudotyping *Autographa californica* multicapsid nucleopolyhedrovirus (AcMNPV): F proteins from group II NPVs are functionally analogous to AcMNPV GP64[J]. *J Virol*, 2002, 76: 5729-5736.
- [26] Westenberg M, Wang H, Ijkel W F, *et al*. Furin is involved in baculovirus envelope fusion protein activation [J]. *J Virol*, 2002, 76: 178-184.
- [27] Hu Z H, Arif B M, Sun J S, *et al*. Genetic organization of the HindIII-I region of the single-nucleocapsid nucleopolyhedrovirus of *Buzura suppressaria*[J]. *Virus Res*, 1998, 55: 71-82.
- [28] Pearson M N, Groten C, Rohrmann G F. Identification of the *Lymantria dispar* nucleopolyhedrovirus envelope fusion protein provides evidence for a phylogenetic division of the Baculoviridae[J]. *J Virol*, 2000, 74: 6126-6131.
- [29] Pearson M N, Rohrmann G F. Transferring, incorporation, and substitution of envelope fusion proteins among members of the Baculoviridae, Orthomyxoviridae, and Metaviridae (insect retrovirus) families [J]. *J Virol*, 2002, 76: 5301-5304.
- [30] Pearson M N, Russell R L, Rohrmann G F. Characterization of a baculovirus-encoded protein that is associated with infected-cell membranes and budded virions[J]. *Virology*, 2001, 291: 22-31.
- [31] Lung O Y, Cruz-Alvarez M, Blissard G W. Ac23, an envelope fusion protein homolog in the baculovirus *Autographa californica* multicapsid nucleopolyhedrovirus, is a viral pathogenicity factor[J]. *J Virol*, 2003, 77: 328-339.
- [32] Morse M A, Marriott A C, Nuttall P A. The glycoprotein of Thogoto virus (a tick-borne orthomyxo-like virus) is related to the baculovirus glycoprotein GP64[J]. *Virology*, 1992, 186: 640-646.
- [33] Mangor J T, Monsma S A, Johnson M C, *et al*. A GP64-null baculovirus pseudotyped with vesicular stomatitis virus G protein[J]. *J Virol*, 2001, 75: 2544-2556.
- [34] Boublik Y, Di Bonito P, Jones I M. Eukaryotic virus display: engineering the major surface glycoprotein of the *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus (AcNPV) for the presentation of foreign proteins on the virus surface[J]. *Biotechnology*, 1995, 13: 1079-1084.
- [35] Ernst W J, Spenger A, Toellner L, *et al*. Expanding baculovirus surface display modification of the native coat protein GP64 of *Autographa californica* NPV[J]. *Eur J Biochem*, 2000, 267: 4033-4039.
- [36] Spenger A, Grabherr R, Tollner L, *et al*. Altering the surface properties of baculovirus *Autographa californica* NPV by insertional mutagenesis of the envelope protein GP64[J]. *Eur J Biochem*, 2002, 269:4458-4467.
- [37] Lindley K M, Su J L, Hodges P K, *et al*. Production of monoclonal antibodies using recombinant baculovirus displaying GP64-fusion proteins[J]. *J Immunol Methods*, 2000, 234:123 - 135.
- [38] Tanaka T, Takeno T, Watanabe Y, *et al*. The generation of monoclonal antibodies against human peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2002, 9: 233-242.
- [39] Tami C, Farber M, Palma E L, *et al*. Presentation of antigenic sites from foot-and-mouth disease virus on the surface of baculovirus and in the membrane of infected cells[J]. *Arch Virol*, 2000, 145: 1815-1828.
- [40] van Loo N D, Fortunati E, Ehler E, *et al*. Baculovirus infection of nondividing mammalian cells: mechanisms of entry and nuclear transport of capsids[J]. *J Virol*, 2001, 75: 961-970.
- [41] Mottershead D G, Alfthan K, Ojala K, *et al*. Baculoviral display of functional scFv and synthetic IgG binding domains[J]. *Biochim Biophys Res Commun*, 2000, 275: 84-90.
- [42] Huser A, Rudolph M, Hofmann C. Incorporation of decay-accelerating factor into the baculovirus envelope generates complement-resistant gene transfer vectors.[J] *Nat Biotechnol*, 2001, 19: 451-455.
- [43] Kumar M, Bradow B P, Zimmerberg J. Large-Scale Production of Pseudotyped Lentiviral Vectors Using Baculovirus GP64[J]. *Hum Gene Ther*, 2003, 14: 67-77.