微生物学报
Acta Microbiologica Sinica
2021, 61(12): 3903–3917
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn
DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.20210161

Review 综 述

非洲猪瘟病毒的非必需基因：真的可有可无吗？

罗瑞[1,2]，潘力[2]，孙元[2*]，黄淑坚[1*]，仇华吉[1,2*]

[1] 佛山科学技术学院生命科学与工程学院，广东 佛山 528231
[2] 中国农业科学院哈尔滨兽医研究所，兽医生物技术国家重点实验室，黑龙江 哈尔滨 150069

摘要：非洲猪瘟(African swine fever，ASF)是由非洲猪瘟病毒(African swine fever virus，ASFV)引起的一种出血性、致死性的猪烈性传染病。ASF 在全球广泛传播，给养猪业造成重大的经济损失。ASFV 基因组庞大，可编码 150 多种蛋白，一些非必需基因编码的蛋白与调控病毒毒力、复制和免疫逃逸等相关。通过删除 ASFV 毒力相关的非必需基因所构建的减毒株是当前比较有前景的疫苗，然而其安全性有待提高。系统地鉴定 ASFV 非必需基因及其功能，不仅有助于 ASF 基因缺失疫苗的研发，也有益于 ASFV 致病机制研究。本文对目前已鉴定的 ASFV 非必需基因及其功能研究进行了总结分析，着重讨论了影响 ASFV 毒力、调控病毒复制、参与免疫逃逸的非必需基因及其编码蛋白的功能，旨在加深对 ASFV 病原学的认识，为新的 ASFV 非必需基因的鉴定和功能研究提供参考。

关键词：非洲猪瘟，非洲猪瘟病毒，非必需基因，毒力，免疫逃逸

非洲猪瘟(African swine fever，ASF)是由非洲猪瘟病毒(African swine fever virus，ASFV)引起的一种出血性、致死性猪烈性传染病[1]。ASF 于 1921 年在肯尼亚首次暴发，主要在撒哈拉以南的非洲地区流行，上世纪中叶传入欧洲，随后传至南美洲地区，2007 年格鲁吉亚暴发 ASF 疫情并迅速波及俄罗斯、立陶宛等多个欧洲国家[2–4]。2018 年 8 月我国辽宁省沈阳市首次报告该病，随后的几个月内，ASF 几乎席卷了我国所有省份，给我国养猪行业带来了沉重打击[5]。ASFV 的天然宿主为家猪、野猪和钝缘蜱，ASF 在家猪-野猪、野猪-软蜱-家猪间循环传播，疣猪、钝缘蜱等自然宿主感染后无明显临床表现，是本病的传播媒介之一[6–7]。ASFV 可通过直接、间接

基金项目：国家自然科学基金(U20A2060，32072854，32072855，32072866)；广东省重点领域研发计划(2019B020211003)
[*]**通信作者**。仇华吉，Tel/Fax：+86-451-51051708，E-mail：qiuhuaji@caas.cn；黄淑坚，E-mail：sjhuang.foshan@163.com；孙元，E-mail：sunyuan@caas.cn
收稿日期：2021-03-15；**修回日期**：2021-06-07；**网络出版日期**：2021-09-28

接触感染 ASFV 的病猪、排泄物、污染物及节肢动物媒介(蝇、蚊子、软蜱)等进行传播[8]。

通过生物信息学预测发现，ASFV 基因组编码的 151–174 个基因中，有 86 个基因为必需基因，其余为非必需基因[9]。虽然众多学者开展了相关研究，但仍有超过半数的 ASFV 基因功能不清楚。ASFV 的非必需基因对病毒毒力、免疫逃逸等方面具有重要作用[10]，因此，对非必需基因的研究十分重要。本文着重介绍了 ASFV 的非必需基因研究概况，并将其分类汇总，以期为 ASFV 的致病机制与疫苗研发提供思路。

1 非洲猪瘟病毒

ASFV 是非洲猪瘟相关病毒科(Asfarviridae)非洲猪瘟病毒属(Asfivirus)的成员，是目前已知的唯一虫媒 DNA 病毒，成熟病毒粒子直径 260–300 nm，自内向外分别是病毒基因组、内核心壳、内膜、衣壳和外膜(图 1)[11–12]。根据 ASFV p72 (*B646L*)基因末端约 500 bp 核苷酸的差异，现已鉴定出 24 种基因型，格鲁吉亚、俄罗斯、中国、东南亚和东欧地区流行的主要是基因 II 型，其他基因型主要流行于非洲和南美洲等地区[13–15]。

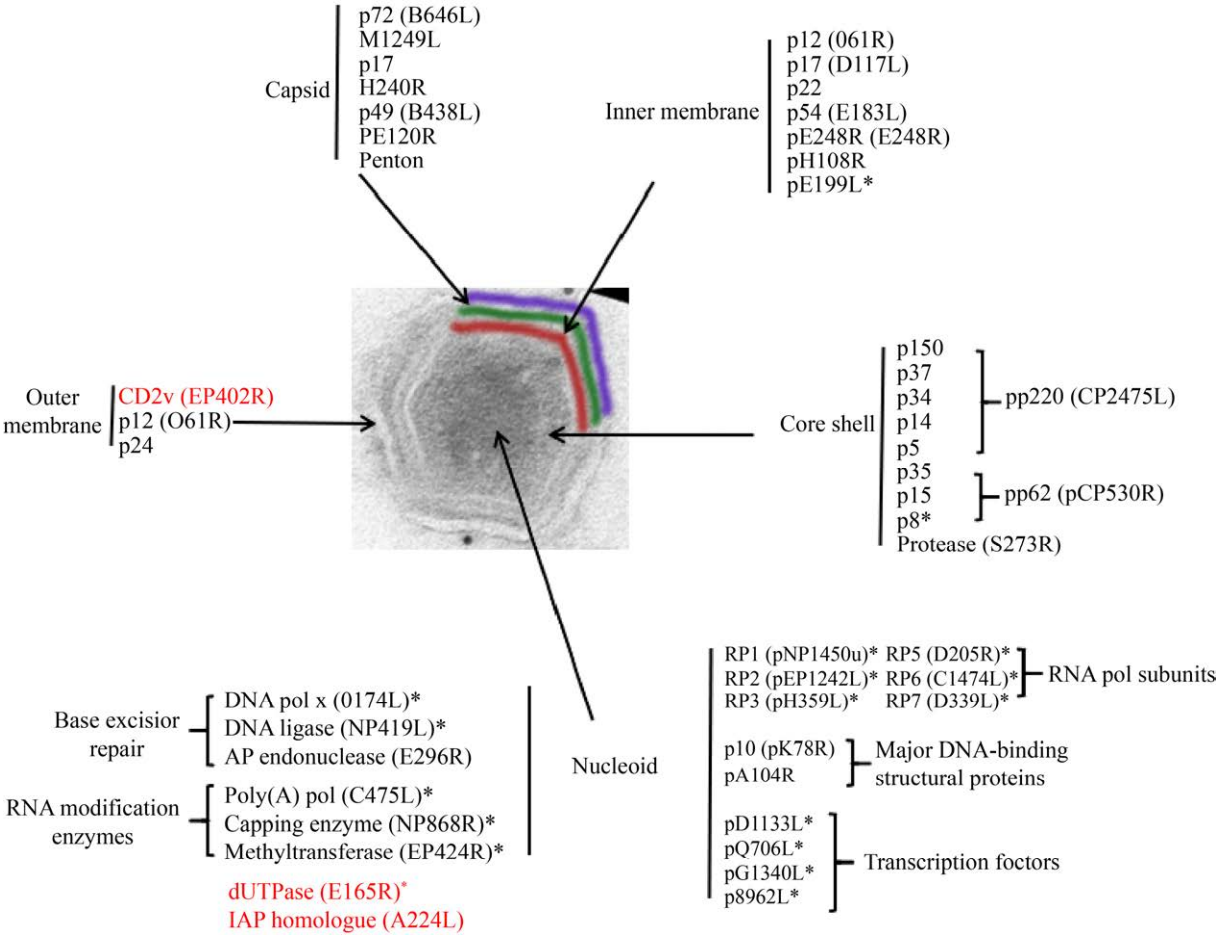

图 1. ASFV 蛋白分布(改自 Alejo 等[16])

Figure 1. ASFV protein atlas (adapted from Alejo et al.[16]). The distribution of proteins marked with an asterisk (*) was inferred from the predicted or known roles; the genes marked in red are nonessential genes.

ASFV 是一种有囊膜的双链 DNA 病毒，基因组全长 170–194 kb，基因组两端具有串联重复序列和多基因家族构成的可变区，不同毒株的两端可变区不同[11,17–19]。ASFV 的基因组分析对病毒基因功能、发病机制等研究具有重要意义。

根据基因缺失是否导致生物活性丧失，基因可分为必需基因和非必需基因，必需基因是生物生存和增殖所必需的，而非必需基因对生物生存和增殖是非必需的[20]。2020 年 Wang 等对 46 株 ASFV 基因组进行了综合分析发现，ASFV 具有开放性泛基因组，同时在 ASFV 中发现的 151–174 个基因中，只有 86 个基因被鉴定为必需基因，其余为非必需基因[9]。

ASFV 基因组包含 151–174 个开放阅读框，可编码 68 种结构蛋白和 100 多种非结构蛋白[11]。据报道，24%的蛋白与 ASFV 形态相关，19%的蛋白与 ASFV 基因转录相关，6%的蛋白与维持 ASFV 基因组完整性有关，4%的蛋白介导 ASFV 侵入细胞，3%的蛋白与免疫逃逸有关，其他功能已知的蛋白占 10%，功能未知的蛋白约占 34%[16]。大部分蛋白功能未知，限制了 ASFV 复制相关基因和毒力相关基因的鉴定以及疫苗的研制。

在 ASFV 结构蛋白中，囊膜蛋白包括 CD2v、p12 和 p24 等，其中 CD2v 参与吸附红细胞、干扰宿主免疫防御[21]，p12 属于黏附蛋白，参与病毒吸附入侵[22]；二十面体的蛋白质衣壳由 p72、p49、M1249L、p17、H240R 和 PE120R 等组成，其中 p72 为主要衣壳蛋白[23]；内膜至少由 7 种已知的蛋白组成，分别为 p17(pD117L)、pE183L、p12(pO61R)、p22(pKP177L)、pH108R、pE199L 和 pE248R；核壳主要由多蛋白 pp220(CP2475L)[24] 和 pp62(CP530R)[25]的蛋白水解产物和病毒蛋白酶组成[26] (图 1)，这些蛋白约占病毒粒子总质量的 1/3[25]。

除上述结构蛋白外，ASFV 还存在多种不同功能的非结构蛋白：维持基因组完整性的碱基切除修复(BER)系统的 AP 内切酶(PE296R)[27]、DNA 连接酶(PNP419L)[28]、DNA 聚合酶(Q174L)[29]；干扰宿主防御机制的 pA224L 和 CD2v 等蛋白[30]；细胞凋亡相关蛋白 A179L、EP153R、DP71L 和 E183L；自噬相关蛋白 A179L；调控蛋白合成的 DP71L、A224L 和 D250R；调控 MHC 表达的 EP153R[31]。

2 ASFV 非必需基因的鉴定方法

ASFV 非必需基因主要通过分析 ASFV 基因序列，预测出非必需基因后，通过构建基因缺失病毒进行验证，并研究其编码蛋白的功能。

2.1 非必需基因的预测

可用 Sanger 和 Roary 软件对 ASFV 基因组的必需基因和非必需基因进行分析。使用 InterProScan 等软件在 NCBI、TIGRFAM、Panther、Gene3D、PRINTS、Pfam 和 ProDom 等数据库中进行同源性搜索，对 ASFV 基因组序列进行比较。利用微阵列技术寻找目的基因和评估 ASFV 基因的潜在功能，利用 SCOARY v1.6.16 软件进行全基因组关联研究(PANGWAS)分析基因型与表型之间的关系[32]，利用上述生物信息学方法进行预测后，需要试验验证，能够缺失的基因为非必需基因。

2.2 非必需基因的验证

分析出待验证的非必需基因并对其功能预测以后，可用 TALEN、ZFN 和 CRISPR/Cas9 等基因编辑技术构建基因缺失病毒。CRISPR/Cas9

技术可对不同的真核和原核生物进行遗传操作，有针对性地对病毒基因进行编辑，目前已经利用CRISPR/Cas9 系统研究了 ASFV 的 *EP402R*、*9GL* 基因[33]。其主要步骤分为：构建 CRISPR/Cas9 载体、构建筛选表达盒、构建同源重组转移载体、细胞转染和重组病毒筛选与纯化[34]。

除了上述基因编辑方法外，还可以采用其他基因编辑手段使非必需基因编码的蛋白功能丧失，例如移码突变、点突变、缺失和插入等。基因缺失病毒构建成功后，可利用测序技术把基因缺失病毒和亲本病毒的全基因组序列进行比较，评价基因修饰的准确性、基因组的完整性和重组病毒的纯度。

2.3 非必需基因功能研究

基因缺失(突变)病毒构建后，可进行体内或体外的验证，以明确非必需基因对病毒毒力、病毒复制的影响以及免疫逃逸等方面的作用机制。在体外培养，可观察病毒在细胞中的复制水平和致细胞病变(CPE)情况；也可进行体内实验，观察动物接种基因缺失毒后的临床症状、检测抗体水平并评价免疫攻毒保护效果等。

3 ASFV 非必需基因编码蛋白的功能

3.1 影响病毒毒力

与其他类型的疫苗相比，通过删除与毒力相关的非必需基因而构建的基因缺失活疫苗，是当前最具有前景的疫苗研发方案。

3.1.1 非必需基因单个缺失对病毒复制与毒力的影响：一些非必需基因的单个缺失可在不同毒株中产生减毒作用，为基因缺失苗的开发提供研究思路，例如 *I177L*、*TK*(*A240L*)、*UK*(*DP96R*)、*9GL*、*NL*(*DP71L*)、*CD2v* 和 *DP148R* 等基因[35–39]，这些基因缺失后对病毒毒力、病毒复制的影响以及同源保护效果见表 1。值得注意的是，ASFV-BA71V-ΔCD2 可诱导交叉保护，这与特异性 T 细胞识别 BA71V 株和 E75 株病毒有关[40]；同时 CD2v 蛋白可增强 ASFV 在脾中的复制[41]，因 CD2v 和 C 型凝集素蛋白与 HAI 的血清学特异性有关，可用 CD2v/C 型凝集素基因进行 ASFV 血清型的分型[42]；在不同 ASFV 毒株中，缺失 *9GL* 对降低病毒毒力效果不同[43]，Malawi Lil-20/1 株缺失 *9GL* 后毒力显著降低[44]，而 ASFV Georgia/2007 株缺失 *9GL* 后并未充分致弱[45]。此外，研究证实 *9GL* 编码的晚期病毒蛋白 p14 在核苷酸和氨基酸水平上均高度保守，且 *9GL* 与酵母 *ERV1* 和 *ALR* 基因相似，同时 *9GL* 影响正常的病毒粒子成熟[44]。

但是一些非必需基因，如 *X69R*、*MGF360-16R*、*8DR*、*MGF360-1L*、*C962R*、*11L*、*8CR*、*5EL*、*4CL*、*I329L* 和 *E165R* 等，与病毒毒力无关[46–59]。

3.1.2 非必需基因组合缺失对病毒复制与毒力的影响：虽然单基因缺失毒在诱导保护方面是有效的，但其安全性令人担忧。因此，同时删除多个非必需基因构建的多基因缺失毒，不仅可以起到保护作用，也降低了毒力返强的风险[60]。截至目前，最有商业化前景的多基因缺失疫苗候选株有 ASFV-HLJ/18-Δ7GD、ASFV-G-Δ9GL/ΔUK、ASFV-Benin97/1-ΔMGF360/MGF530、ASFV-Benin97/1-MGFΔ505/ MGF360-9L/MGF530 等[61–63]。其中，我国科学家以 ASFV HLJ/18 株为骨架，构建了 7 个基因(*MGF505-1R*、*MGF505-2R*、*MGF505-3R*、*MGF360-12L*、*MGF360-13L*、

表 1. ASFV 的非必需基因

Table 1. The nonessential genes of ASFV

Genes	Function	Isolate	Virulence	Virus replication in cells	Homologous protection effect	References
I177L	–	Georgia	Completely attenuated	Reduced	Good protection	[35]
DP148R	–	Benin 97/1	Attenuated	No effect	–	[39]
9GL (B119L)	Morphogenesis	Georgia	Attenuated	Reduced replication	Good protection	
		Malawi Lil-20/1	Attenuated	Reduced replication	Good protection	[44–45]
		Pretoriuskop/96/4	Attenuated	Reduced replication	Good protection	
CD2v (EP402R)	Binding to red blood cells	BA71V	Attenuated	Reduced replication	Resist BA71v E75 attacks	[40]
NL-S	–	E70	Attenuated	No effect	Good protection	[38]
UK (DP96R)	IFN inhibitor	E70	Attenuated	No effect	–	[37]
A238L	IFN inhibitor	NH/P68	Attenuated	Reduced replication	Good protection	[66]
A240L (TK)	Thymidine kinase	Georgia	Completely attenuated	Reduced replication	No protection	[36]
C962R	Encode late expression protein	Georgia	No effect	No effect	–	[49]
X69R	Encode early expression protein	Georgia	No effect	No effect	–	[46]
MGF360-1L	–	Georgia	No effect	No effect	–	[50]
MGF360-16R	Interaction with host proteins SERTAD3 and SDCBP	Georgia	No effect	No effect	–	[47]
L83L	IL-1beta binding protein	Georgia	No effect	No effect	–	[51]
8DR	Binding to red blood cells	Georgia	No effect	–	–	[48]
4CL (A224L)	IAP apoptosis inhibitor	MalawiLIL-20/1	No effect	No effect	–	[58]
I329L	IFN inhibitor	OURT88/3	No effect	No effect	–	[59]
MGF360-12L	IFN inhibitor	–	–	–	–	[67]
NL (DP71L)	IFN inhibitor	MalawiLil-20/, Pretoriuskop/96/4	No effect	No effect	–	[53]
EP153R	C-type lectin	BA71V	No effect	–	–	[68]
8CR	–	Malawi Lil-20/1	No effect	No effect	–	[54]
11L	Transmembrane	BA71V	No effect	No effect	–	[56]
5EL	–	MalawiLIL-20/1	No effect	No effect	–	[52]
E165R	dUTPase	BA71V	No effect	No effect	–	[57]
O174L	Polymerase X	BA71V	No effect	Reduced replication	–	[29]

(待续)

(续表 1)

E296R	AP endonuclease	BA71V	No effect	Reduced replication	–	[27]
Nonessential gene combination deletion						
MGF505-1R, 2R, 3R, MGF360-12L, 13L, 14L, CD2v	IFN inhibitor	HLJ/18	Completely attenuated	Reduced replication	Good protection	[61]
MGF505-1R, 2R, 3R MGF360-12L, 13L, 14L	IFN inhibitor	Georgia	Completely attenuated	No effect	Good protection	[63]
MGF360-9L, 10L, 11L, 12L, 13L, 14L, MGF530/505-1R, 2R, 3R, 4R,	IFN inhibitor	Benin 97/1	Attenuated	No effect	Good protection	[62]
9GL, CD2v, EP153R	Binding to red blood	Georgia	Attenuated	Reduced replication	No protection	
9GL, UK	Morphogenesis	Georgia	Attenuated	Reduced replication	Good protection	[60]
9GL, NL, UK	IFN inhibitor	Georgia	Attenuated	Cause replication defects	No protection	[64]
9GL, MGF360/505	IFN inhibitor	Georgia	Attenuated	Reduced replication	No protection	[65]
L7L-L11L	–	SY18	Attenuated	No effect	Good protection	[55]
CD2v, UK	IFN inhibitor binding to red blood	SY18	Attenuated	No effect	Good protection	[69]

–: no reports.

MGF360-14L 和 *CD2v*)缺失的突变株，临床试验初步证实ASFV-HLJ/18-Δ7GD在猪体内可完全致弱。可以预测，ASFV-HLJ/-18-Δ7GD 是一种安全有效的 ASF 候选疫苗株，有望在控制 ASF 中发挥重要作用，但还需进一步评估[61]。O'Donnell 等构建了 ASFV-Georgia-Δ9GL/ΔUK 缺失毒，临床试验表明，ASFV-Georgia-Δ9GL/ΔUK 对猪无致病性并且提供了良好的同源保护，为设计新型 ASF 候选疫苗株提供了新思路[60]。

除此之外，多基因家族的基因缺失也能产生良好的减毒效果并提供完全的同源保护。例如，ASFV-Benin 97/1 分离株缺失 *MGF360* (*MGF360-10L* 、*11L* 、*12L* 、*13L* 和 *14L*) 和 *MGF530/505* (*MGF530/505-1R*、*2R* 和 *3R*)以及 (*MGF360-9L* 和 *MGF530/505-4R*)基因，能降低病毒的毒力，并诱导同源保护[62]。ASFV Georgia 株缺失 *MGF360* (*MGF360-12L*、*MGF360-13L* 和 *MGF360-14L*) 与 *MGF505* (*MGF505-1R* 、*MGF505-2R* 和 *MGF505-3R*)后也可降低毒力并可提供同源保护，但对病毒的复制无影响[63]。

但一些非必需基因组合缺失时，存在减毒效果不佳、同源保护降低的情况。目前发现的这些组合缺失有 ASFV-Georgia-Δ9GL/ΔCD2v/ΔEP153R 、ASFV-Georgia-Δ9GL/ΔNL/ΔUK 、ASFV-Georgia-Δ9GL/ΔMGF360/505 等。ASFV Georgia 株的 *9GL*、*CD2v* 和 *EP153R* 同时缺失后不能提供同源保护，而单独缺失 *9GL* 基因则可提供同源保护，据此推测，*CD2v* 的缺失会拮抗 *9GL* 的致弱效果[43]。

ASFV-Georgia-Δ9GL/ΔNL/ΔUK 无同源保护作用，ASFV-Georgia 的 *UK* 基因缺失并不会降低毒力，*NL* 基因的缺失反而使病毒毒力增强[64]。在 ASFV-Georgia 株中同时缺失 *9GL* 和 *MGF360/505* 基因可显著降低病毒毒力和复制水平，但不能提供同源保护[65]。以上结果表明，研发 ASF 疫苗株时，要结合前人的研究以及非必需基因的特性谨慎组合缺失，切勿盲目操作，总结前人的经验可以发现，利用 *I177L*、*9GL*、*CD2v* 和 MGF 相关基因构建基因缺失苗的成功率是比较大的，但需要进一步证实。

3.2 调控病毒免疫逃逸

3.2.1 抑制细胞凋亡：ASFV 能编码类似凋亡抑制剂的蛋白来抑制细胞凋亡，以促进细胞存活，保证病毒在细胞中的复制。编码抗凋亡蛋白的基因包括 *EP153R*、*A224L*(*4CL*)、*DP71L*、*A179L* 和 *E183L* 等，除 *E183L* 外，其他均为非必需基因[31,68,70–76]。

EP153R 基因可抑制 ASFV 感染所引起的细胞凋亡。在病毒感染或星孢菌素诱导的 Vero 细胞中，EP153R 蛋白抑制细胞蛋白 p53 的反式激活，从而抑制细胞凋亡。*EP153R* 是第一个被发现的具有抗凋亡特性的病毒 C 型凝集素，并且参与 ASFV 感染细胞的红细胞吸附过程。除此之外，*EP153R* 能够抑制 MHC-I 分子的表达，这一抑制作用可能是通过破坏胞吐过程实现的，不影响 MHC 与抗原的合成或糖基化[68]。

A224L 基因是凋亡抑制蛋白(IAP)家族的成员。Dixon 等发现，A224L IAP 样蛋白可通过抑制 caspase-3 以及激活 NF-κB 转录因子调控的抗凋亡基因来抑制细胞凋亡[70]。Nogal 等利用缺失 *A224L* 基因的缺失毒，发现 *A224L* 基因编码的蛋白与 caspase-3 蛋白水解酶片段相互作用，抑制酶的活性从而诱导细胞凋亡。此外，*A224L* 能显著抑制肿瘤坏死因子 α (TNF-α)、放线菌酮或星形孢菌素在 Vero 细胞中过表达时的 caspase 活性和细胞凋亡[71]。

DP71L 编码的蛋白与宿主的生长抑制 DNA 损伤基因 34 (GADD34)具有类似的功能，能够利用蛋白激酶 1 将真核转录起始因子 2α (eIF2α)去磷酸化，促进宿主细胞蛋白合成，同时还能够抑制促细胞凋亡因子(CHOP)的活化，和细胞凋亡[72–73]。

A179L 编码的蛋白能与几种促凋亡的 Bcl-2 蛋白结合[74]，可抑制各类细胞的细胞凋亡，例如，它能抑制双链 RNA 激活蛋白激酶(P68)诱导的 HeLa 和 BSC-40 细胞的凋亡[75]，以及大分子合成抑制剂诱导 K562 的凋亡[76]。除了具有抑制细胞凋亡作用外，还能通过与 Beclin-1 的相互作用调节自噬，抑制自噬小体的形成[77]。

3.2.2 参与干扰素的调节：ASFV 基因组编码许多不是病毒复制所必需的基因，如 *A238L*、*I329L*、*MGF360-12L*、*DP96R*、*MGF360*、*MGF530/505* 和 *A276R* 基因等，但可以调控干扰素(IFN)的表达，影响宿主防御病毒感染从而实现免疫逃逸[78–86]。

A238L 蛋白是免疫逃逸相关蛋白[78]。A238L 蛋白能够抑制炎症反应以及核转录因子 NF-κB 和活化 T 细胞核因子(NAFT)依赖性基因的表达，从而实现免疫逃逸。*A238L* 能下调 TNF-α 的表达或者抑制环氧化(cox-2)的表达从而下调前列腺素 E2 的表达量，而前列腺素 E2 是一种炎症脂质介质和免疫反应调节剂，参与炎症反应与免疫应答。除此之外，*A238L* 抑制 p65/relA 乙酰化以及抑制 p300 反式激活对诱导型一氧化氮合酶(INOS)表达的调节，致使 INOS 产生一氧化氮(NO)，对宿主细胞造成损害，利于病毒的传播[79]。

ASFV OURT88/3 株的 *I329L* 基因能抑制 I 型 IFN 的产生，通过靶向不同的细胞内信号中间产物来降低 I 型 IFN 的表达[80]。*I329L* 基因编码一种高度糖基化蛋白，*I329L* 蛋白抑制 IFN-β 和 CCL5 的激活，也能抑制双链 RNA 诱导的 NF-κB 和 IRF3 激活[81]。*A276R* 与 *I329L* 基因都可通过 TLR3 抑制 IFN-β 的产生[66]。

MGF360-12L 基因通过阻断 Importin α 介导的 p65 入核以及 NF-κB 信号通路来抑制 I 型 IFN 的产生。研究显示，ASFV-MGF360-12L 可以降低 IRF3、STING、TBK1、ISG54、ISG56 和 AP-1 的 mRNA 转录，*MGF360-12L* 还可抑制经典核定位信号(NLS)介导的 p50 和 p65 的核定位，此外，*MGF360-12L* 可以竞争性地抑制 NF-κB 与核转运蛋白的相互作用，从而干扰 NF-κB 的核转移，这也为 ASFV 实现其免疫逃逸提供了一种新策略[67]。

ASFV-China 2018/1 株的 *DP96R* 通过 cGAS-STING-TBK1 信号通路干扰 I 型 IFN 的产生。*DP96R* 可抑制 cGAS/STING 和 TBK1，选择性地阻断 cGAS/STING 和 TBK1 诱导的 NF-κB 启动子的激活。此外，还可抑制 cGAS/STING 激活的 TBK1 磷酸化以及 TBK1 诱导的抗病毒应答[82]。

MGF360 和 *MGF505* 基因可直接或间接抑制 I 型 IFN 的表达[83]，*MGF360* 和 *MGF505* 与 ASFV 宿主范围特异性、抑制宿主先天免疫和病毒毒力有关[63]。*MGF360* 家族成员 *A276R* 可以抑制 Poly(1:C)刺激的 I 型 IFN 上调表达，而对 JAK-STAT 途径和 NF-κB 信号通路没有抑制作用；*MGF505* 家族成员 *A528R* 可以抑制 Poly(I:C)刺激的 IFN 诱导表达，同时对 JAK-STAT 途径具有抑制作用[84]。

3.3 其他功能

维持基因组完整性的碱基切除修复(BER)系统对于消除许多类型的碱基损伤、修复碱基位点至关重要，可在宿主细胞高度氧化的环境中保护病毒基因组，BER 主要包括 AP 内切酶(*E296R*)[27]、DNA 连接酶(*NP419L*)[28]、DNA 聚合酶(*O174L*)[29]，*E296R* 与 *O174L* 是 ASFV 在 Vero 细胞中增殖非必需的基因[27–28]。

ASFV *E296R* 基因编码一种 II 类无嘌呤和无嘧啶(AP)核酸内切酶，具有 AP 位点特异性的核酸内切活性。ASFV AP 内切酶具有 AP 内切酶、3′–5′外切酶和核苷酸切割修复(NIR)活性[85–86]。3′–5′核酸外切酶可以参与基因组复制过程中校对，也可以消除出现在单链断裂中的错配，这些特性使该酶适合参与 BER[87]。当 AP 核酸内切酶基因缺失时，病毒在猪巨噬细胞中的复制受损，并导致 Vero 细胞对氧化和烷基化 DNA 损伤化合物的敏感性增高[27]。

ASFV *O174L* 基因编码 DNA 聚合酶 Pol X，为一种晚期结构蛋白，缺失该基因的病毒在 Vero 细胞中复制时对氧化损伤很敏感，该基因的缺失会导致基因突变频率增加[29]。*NP419L* 基因编码一种 I 型 DNA 连接酶，是病毒 BER 系统的一部分，所以它并不是非必需基因[28]。由于这些基因具有某些独特的功能，可以据此设计小分子抑制剂，以干扰 ASFV 基因组的修复过程，达到抗病毒的目的。

ASFV-Georgia 编码的 *MGF360-16R* 与宿主蛋白 SERTAD3 和 SDCBP 相互作用。利用酵母双杂交技术分析发现，*MGF360-16R* 与宿主蛋白 SERTAD3 的 Serta 结构域和 Syndecan 结合蛋白(SDCBP)相结合，SERTAD3 和 SDCBP 都参与核

转录，且 SDCBP 参与宿主细胞内的病毒运输[47]。因而，推测 *MGF360-16R* 可能与核转录和宿主细胞内的病毒运输有关，但需要进行进一步验证。

ASFV 的 *E165R* 基因是 dUTP 核苷酸水解酶(dUTPase)家族的成员，*E165R* 的活性中心与 dUTPase 非常相似。dUTPase 在该蛋白家族的基序中是保守的，该酶在感染的早期和晚期都有表达，并定位于感染细胞的细胞质中。dUTPase 在细胞质中降解 dUTP，从而减少尿嘧啶与病毒 DNA 的错误结合，这在维持基因的保真度方面起着至关重要的作用。抑制 dUTPase 的活性可能不利于 ASFV 的复制。因此，可将 dUTPase 作为抗病毒药物设计的靶点[88–89]。

4 总结和展望

ASF 是一种致死率可高达 100%的猪烈性传染病。ASF 的传播方式复杂多样，目前无商品化的疫苗可用，仅能依靠生物安全防护、快速诊断及扑杀等措施进行防控，严重威胁各国养猪及相关行业的健康发展。对此，笔者作出以下总结与展望。

首先，ASFV 非必需基因鉴定与研究十分必要。ASFV 具有复杂的基因组结构、编码的蛋白众多，而非必需基因在 ASFV 基因组中所占比重大；ASFV 的非必需基因对病毒毒力、病毒复制、免疫逃逸、参与病毒-宿主相互作用等功能具有重要的影响；ASFV 某些基因表现出遗传多样性或在某些区域具有明显的复杂性，这表明 ASFV 可能利用多种机制，从而获得新的表型特征，如抗原和毒力的变化。

其次，ASFV 非必需基因的筛选鉴定与功能研究具有很大的潜在价值，尤其在疫苗研究方面。有关学者尝试了各种类型疫苗和各种构建疫苗的策略，但这些疫苗均未商品化。大部分基因缺失疫苗的保护率高，免疫后可以抵抗亲本毒株的攻击，有的可以抵抗异源毒株的攻击。笔者认为，基因缺失疫苗是目前比较有希望成功的疫苗，通过敲除与毒力、免疫逃逸相关的非必需基因构建基因缺失病毒，如 ASFV-HLJ/-18-7GD、ASFV-Georgia-Δ9GL/ΔUK 和 ASFV-SY18-ΔCD2v/UK[60–61,69]等候选株毒力完全被致弱，给 ASF 防控带来曙光。遗憾的是，减毒活疫苗可能存在重组、突变和毒力返强的风险，这也是各国对现有 ASF 基因缺失活疫苗商品化慎之又慎的主要因素。既然缺失 ASFV 非必需基因可将病毒致弱且能提供免疫保护，因而今后要深入解析未知的非必需基因，最终达到 ASF 疫苗株即使小范围内重组或突变也不影响该疫苗株的安全性和免疫原性的目的。因此，积极探究 ASFV 非必需基因的功能，尤其是未知非必需基因的功能，将为揭开 ASFV 的神秘“面纱”打下基础。

再次，ASFV 非必需基因的研究策略需要改进。未来应充分利用基因组学、生物信息学、合成生物学和空间转录组学等预测出具有研究意义的非必需基因并对其功能进行验证。利用这些技术构建 ASFV 突变体，敲除与毒力相关的非必需基因以实现预期目的；代谢组学可通过对 ASFV 感染宿主代谢产物的识别，有利于揭示 ASFV 的致病机制；空间转录组学将有助于我们研究 ASFV 非必需基因的功能，通过结合影像组学和测序技术，可以对特定条件下的非必需基因转录产物进行定位，从而明确 ASFV 非必需基因编码蛋白与免疫系统之间的相互作用。完成基因预测后，利用 CRISPR/Cas9 等基因编

辑技术构建基因缺失突变株，从而确定是否为非必需基因。

功能已被初步解析的非必需基因仅占少数，是否还有其他非必需基因与病毒毒力和病毒复制相关？还有哪些非必需基因在免疫逃逸过程中发挥作用？非必需基因之间存在怎样的协同作用？以上几个问题值得继续探究。

致谢

感谢本团队王涛博士和孙茂文硕士所提出的专业性修改建议。

参 考 文 献

[1] Lokhandwala S, Petrovan V, Popescu L, Sangewar N, Elijah C, Stoian A, Olcha M, Ennen L, Bray J, Bishop RP, Waghela SD, Sheahan M, Rowland RRR, Mwangi W. Adenovirus-vectored African Swine Fever Virus antigen cocktails are immunogenic but not protective against intranasal challenge with *Georgia* 2007/1 isolate. *Veterinary Microbiology*, 2019, 235: 10–20.

[2] Simulundu E, Lubaba CH, van Heerden J, Kajihara M, Mataa L, Chambaro HM, Sinkala Y, Munjita SM, Munang'andu HM, Nalubamba KS, Samui K, Pandey GS, Takada A, Mweene AS. The epidemiology of African swine fever in “nonendemic” regions of Zambia (1989-2015): implications for disease prevention and control. *Viruses*, 2017, 9(9): E236.

[3] Rowlands RJ, Michaud V, Heath L, Hutchings G, Oura C, Vosloo W, Dwarka R, Onashvili T, Albina E, Dixon LK. African swine fever virus isolate, *Georgia*, 2007. *Emerging Infectious Diseases*, 2008, 14(12): 1870–1874.

[4] Gogin A, Gerasimov V, Malogolovkin A, Kolbasov D. African swine fever in the North Caucasus region and the Russian Federation in years 2007–2012. *Virus Research*, 2013, 173(1): 198–203.

[5] Zhou XT, Li N, Luo YZ, Liu Y, Miao FM, Chen T, Zhang SF, Cao PL, Li XD, Tian KG, Qiu HJ, Hu RL. Emergence of African swine fever in China, 2018. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2018, 65(6): 1482–1484.

[6] Olesen AS, Lohse L, Boklund A, Halasa T, Gallardo C, Pejsak Z, Belsham GJ, Rasmussen TB, Bøtner A. Transmission of African swine fever virus from infected pigs by direct contact and aerosol routes. *Veterinary Microbiology*, 2017, 211: 92–102.

[7] Luo YZ, Sun Y, Wang T, Qiu HJ. African swine fever: A major threat to the Chinese swine industry. *Scientia Agricultura Sinica*, 2018, 51(21): 4177–4187. (in Chinese)
罗玉子, 孙元, 王涛, 仇华吉. 非洲猪瘟——我国养猪业的重大威胁. 中国农业科学, 2018, 51(21): 4177–4187.

[8] Saegerman C, Bonnet S, Bouhsira E, De Regge N, Fite J, Etoré F, Garigliany MM, Jori F, Lempereur L, Le Potier MF, Quillery E, Vergne T, Vial L. An expert opinion assessment of blood-feeding arthropods based on their capacity to transmit African swine fever virus in Metropolitan France. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2021, 68(3): 1190–1204.

[9] Wang L, Luo YZ, Zhao YH, Gao GF, Bi YH, Qiu HJ. Comparative genomic analysis reveals an ‘open’ *Pan*-genome of African swine fever virus. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2020, 67(4): 1553–1562.

[10] Wu KK, Liu JM, Wang LX, Fan SQ, Li ZY, Li YW, Yi L, Ding HX, Zhao MQ, Chen JD. Current state of global African swine fever vaccine development under the prevalence and transmission of ASF in China. *Vaccines*, 2020, 8(3): 531.

[11] Dixon LK, Chapman DAG, Netherton CL, Upton C. African swine fever virus replication and genomics. *Virus Research*, 2013, 173(1): 3–14.

[12] Alonso C, Borca M, Dixon L, Revilla Y, Rodriguez F, Escribano JM, Consortium IR. ICTV virus taxonomy profile: Asfarviridae. *Journal of General Virology*, 2018, 99(5): 613–614.

[13] Quembo CJ, Jori F, Vosloo W, Heath L. Genetic characterization of African swine fever virus isolates from soft ticks at the wildlife/domestic interface in Mozambique and identification of a novel genotype. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2018, 65(2): 420–431.

[14] Bisimwa PN, Ongus JR, Tiambo CK, Machuka EM, Bisimwa EB, Steinaa L, Pelle R. First detection of African swine fever (ASF) virus genotype X and serogroup 7 in symptomatic pigs in the Democratic Republic of Congo. *Virology Journal*, 2020, 17(1): 135.

[15] Hakizimana JN, Nyabongo L, Ntirandekura JB, Yona C, Ntakirutimana D, Kamana O, Nauwynck H, Misinzo G. Genetic analysis of African swine fever virus from the 2018

outbreak in south-eastern Burundi. *Frontiers in Veterinary Science*, 2020, 7: 578474.

[16] Alejo A, Matamoros T, Guerra M, Andrés G. A proteomic atlas of the African swine fever virus particle. *Journal of Virology*, 2018, 92(23): e01293-18

[17] Gallardo MC, Reoyo ADLT, Fernández-Pinero J, Iglesias I, Muñoz MJ, Arias ML. African swine fever: a global view of the current challenge. *Porcine Health Management*, 2015, 1(1): 1–14.

[18] Wang N, Zhao DM, Wang JL, Zhang YL, Wang M, Gao Y, Li F, Wang JF, Bu ZG, Rao ZH, Wang XX. Architecture of African swine fever virus and implications for viral assembly. *Science*, 2019, 366(6465): 640–644.

[19] Salas ML, Andrés G. African swine fever virus morphogenesis. *Virus Research*, 2013, 173(1): 29–41.

[20] Li J, Wang HT, Wang WT, Zhang XR, Suo F, Ren JY, Bi Y, Xue YX, Hu W, Dong MQ, Du LL. Systematic analysis reveals the prevalence and principles of by-passable gene essentiality. *Nature Communications*, 2019, 10: 1002.

[21] Goatley LC, Dixon LK. Processing and localization of the African swine fever virus CD2v transmembrane protein. *Journal of Virology*, 2011, 85(7): 3294–3305.

[22] Suárez C, Gutiérrez-Berzal J, Andrés G, Salas ML, Rodríguez JM. African swine fever virus protein p17 is essential for the progression of viral membrane precursors toward icosahedral intermediates. *Journal of Virology*, 2010, 84(15): 7484–7499.

[23] Liu S, Luo YZ, Wang YJ, Li SH, Zhao ZN, Bi YH, Sun JQ, Peng RC, Song H, Zhu DJ, Sun Y, Li S, Zhang L, Wang W, Sun YP, Qi JX, Yan JH, Shi Y, Gao GF. Cryo-EM structure of the African swine fever virus. *Cell Host & Microbe*, 2019, 26(6): 836–843.e3.

[24] Andrés G, Simón-Mateo C, Viñuela E. Assembly of African swine fever virus: role of polyprotein pp220. *Journal of Virology*, 1997, 71(3): 2331–2341.

[25] Andrés G, Alejo A, Salas J, Salas ML. African swine fever virus polyproteins pp220 and pp62 assemble into the core shell. *Journal of Virology*, 2002, 76(24): 12473–12482.

[26] Andrés G, Alejo A, Simón-Mateo C, Salas ML. African swine fever virus protease, a new viral member of the SUMO-1-specific protease family. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(1): 780–787.

[27] Redrejo-Rodríguez M, García-Escudero R, Yáñez-Muñoz RJ, Salas ML, Salas J. African swine fever virus protein pE296R is a DNA repair apurinic/apyrimidinic endonuclease required for virus growth in swine macrophages. *Journal of Virology*, 2006, 80(10): 4847–4857.

[28] Lamarche BJ, Showalter AK, Tsai MD. An error-prone viral DNA ligase. *Biochemistry*, 2005, 44(23): 8408–8417.

[29] Redrejo-Rodríguez M, Rodríguez JM, Suárez C, Salas J, Salas ML. Involvement of the reparative DNA polymerase Pol X of African swine fever virus in the maintenance of viral genome stability *in vivo*. *Journal of Virology*, 2013, 87(17): 9780–9787.

[30] Ge SQ, Li JM, Fan XX, Liu FX, Li L, Wang QH, Ren WJ, Bao JY, Liu CJ, Wang H, Liu YT, Zhang YQ, Xu TG, Wu XD, Wang ZL. Molecular characterization of African swine fever virus, China, 2018. *Emerging Infectious Diseases*, 2018, 24(11): 2131–2133.

[31] Sun MW, Wang T, Sun Y, Yang YY, Qiu HJ. Immunoevasion strategies of African Swine fever virus. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(2): 249–262. (in Chinese)
孙茂文, 王涛, 孙元, 杨玉莹, 仇华吉. 非洲猪瘟病毒的免疫逃逸策略. 微生物学报, 2021, 61(2): 249–262.

[32] Page AJ, Cummins CA, Hunt M, Wong VK, Reuter S, Holden MTG, Fookes M, Falush D, Keane JA, Parkhill J. Roary: rapid large-scale prokaryote *Pan* genome analysis. *Bioinformatics*, 2015, 31(22): 3691–3693.

[33] Woźniakowski G, Mazur-Panasiuk N, Walczak M, Juszkiewicz M, Frant M, Niemczuk K. Attempts at the development of a recombinant African swine fever virus strain with abrogated EP402R, 9GL, and A238L gene structure using the CRISPR/Cas9 system. *Journal of Veterinary Research*, 2020, 64(2): 197–205.

[34] 郑海学, 李攀, 冯涛, 齐晓兰, 刘华南, 张克山, 李丹, 吴盼雪, 马昭, 党文, 刘迎琦, 石正旺, 杨波, 田宏, 郭建宏, 刘湘涛. 非洲猪瘟基因缺失弱毒株的构建及其作为疫苗的应用. 中国专利: CN202010661680. 7. 2020-07-08.

[35] Borca MV, Medina ER, Silva E, Vuono E, Rai A, Pruitt S, Holinka LG, Salinas LV, Zhu J, Gladue DP. Development of a highly effective African swine fever virus vaccine by deletion of the I177L gene results in sterile immunity against the current epidemic Eurasia strain. *bioRxiv*, 2019. DOI: 10.1101/861666.

[36] Sanford B, Holinka LG, O'Donnell V, Krug PW, Carlson J, Alfano M, Carrillo C, Wu P, Lowe A, Risatti GR, Gladue DP, Borca MV. Deletion of the thymidine kinase gene induces complete attenuation of the *Georgia* isolate of African swine fever virus. *Virus Research*, 2016, 213: 165–171.

[37] Zsak L, Caler E, Lu Z, Kutish GF, Neilan JG, Rock DL. A nonessential African swine fever virus gene UK is a significant virulence determinant in domestic swine. *Journal of Virology*, 1998, 72(2): 1028–1035.

[38] Zsak L, Lu Z, Kutish GF, Neilan JG, Rock DL. An African swine fever virus virulence-associated gene NL-S with similarity to the *Herpes simplex* virus ICP34.5 gene. *Journal of Virology*, 1996, 70(12): 8865–8871.

[39] Reis AL, Goatley LC, Jabbar T, Sanchez-Cordon PJ, Netherton CL, Chapman DAG, Dixon LK. Deletion of the African swine fever virus gene DP148R does not reduce virus replication in culture but reduces virus virulence in pigs and induces high levels of protection against challenge. *Journal of Virology*, 2017, 91(24): e01428-17.

[40] Monteagudo PL, Lacasta A, López E, Bosch L, Collado J, Pina-Pedrero S, Correa-Fiz F, Accensi F, Navas MJ, Vidal E, Bustos MJ, Rodríguez JM, Gallei A, Nikolin V, Salas ML, Rodríguez F. BA71ΔCD2: a new recombinant live attenuated African swine fever virus with cross-protective capabilities. *Journal of Virology*, 2017, 91(21): e01058-17.

[41] Rowlands RJ, Duarte MM, Boinas F, Hutchings G, Dixon LK. The CD2v protein enhances African swine fever virus replication in the tick vector, *Ornithodoros erraticus*. *Virology*, 2009, 393(2): 319–328.

[42] Malogolovkin A, Burmakina G, Tulman ER, Delhon G, Diel DG, Salnikov N, Kutish GF, Kolbasov D, Rock DL. African swine fever virus CD2v and C-type lectin gene loci mediate serological specificity. *Journal of General Virology*, 2015, 96(4): 866–873.

[43] Gladue DP, O'Donnell V, Ramirez-Medina E, Rai A, Pruitt S, Vuono EA, Silva E, Velazquez-Salinas L, Borca MV. Deletion of CD2-like (CD2v) and C-type lectin-like (EP153R) genes from African swine fever virus *Georgia*-Δ9GL abrogates its effectiveness as an experimental vaccine. *Viruses*, 2020, 12(10): 1185.

[44] Lewis T, Zsak L, Burrage TG, Lu Z, Kutish GF, Neilan JG, Rock DL. An African swine fever virus ERV1-ALR homologue, 9GL, affects virion maturation and viral growth in macrophages and viral virulence in swine. *Journal of Virology*, 2000, 74(3): 1275–1285.

[45] O'Donnell V, Holinka LG, Krug PW, Gladue DP, Carlson J, Sanford B, Alfano M, Kramer E, Lu ZQ, Arzt J, Reese B, Carrillo C, Risatti GR, Borca MV. African swine fever virus *Georgia* 2007 with a deletion of virulence-associated Gene9GL(B119L), when administered at low doses, leads to virus attenuation in swine and induces an effective protection against homologous challenge. *Journal of Virology*, 2015, 89(16): 8556–8566.

[46] Ramirez-Medina E, Vuono E, Pruitt S, Rai A, Silva E, Zhu J, Velazquez-Salinas L, Gladue DP, Borca MV. X69R is a non-essential gene that, when deleted from African swine fever, does not affect virulence in swine. *Viruses*, 2020, 12(9): 918.

[47] Ramírez-Medina E, Vuono EA, Velazquez-Salinas L, Silva E, Rai A, Pruitt S, Berggren KA, Zhu J, Borca MV, Gladue DP. The MGF360-16R ORF of African swine fever virus strain *Georgia* encodes for a nonessential gene that interacts with host proteins SERTAD3 and SDCBP. *Viruses*, 2020, 12(1): 60.

[48] Borca MV, O'Donnell V, Holinka LG, Risatti GR, Ramirez-Medina E, Vuono EA, Shi JS, Pruitt S, Rai A, Silva E, Velazquez-Salinas L, Gladue DP. Deletion of CD2-like gene from the genome of African swine fever virus strain *Georgia* does not attenuate virulence in swine. *Scientific Reports*, 2020, 10: 494.

[49] Ramirez-Medina E, Vuono EA, Rai A, Pruitt S, Silva E, Velazquez-Salinas L, Zhu J, Borca MV, Gladue DP. The C962R ORF of African swine fever strain *Georgia* is non-essential and not required for virulence in swine. *Viruses*, 2020, 12(6): 676.

[50] Ramirez-Medina E, Vuono EA, Rai A, Pruitt S, Silva E, Velazquez-Salinas L, Zhu J, Gladue DP, Borca MV. Evaluation in swine of a recombinant African swine fever virus lacking the MGF-360-1L gene. *Viruses*, 2020, 12(10): 1193.

[51] Borca MV, O'Donnell V, Holinka LG, Ramírez-Medina E, Clark BA, Vuono EA, Berggren K, Alfano M, Carey LB, Richt JA, Risatti GR, Gladue DP. The L83L ORF of African swine fever virus strain *Georgia* encodes for a non-essential gene that interacts with the host protein IL-1β. *Virus Research*, 2018, 249: 116–123.

[52] Neilan JG, Lu Z, Kutish GF, Zsak L, Lewis TL, Rock DL. A conserved African swine fever virus IkappaB homolog, 5EL, is nonessential for growth *in vitro* and virulence in domestic swine. *Virology*, 1997, 235(2): 377–385.

[53] Afonso CL, Zsak L, Carrillo C, Borca MV, Rock DL. African swine fever virus NL gene is not required for virus virulence. *The Journal of General Virology*, 1998, 79(Pt 10): 2543–2547.

[54] Neilan JG, Borca MV, Lu Z, Kutish GF, Kleiboeker SB, Carrillo C, Zsak L, Rock DL. An African swine fever virus ORF with similarity to C-type lectins is non-essential for

growth in swine macrophages *in vitro* and for virus virulence in domestic swine. *The Journal of General Virology*, 1999, 80(Pt 10): 2693–2697.

[55] Zhang JY, Zhang YY, Chen T, Yang JJ, Yue HX, Wang LD, Zhou XT, Qi Y, Han X, Ke JN, Wang SC, Yang JM, Miao FM, Zhang SF, Zhang F, Wang Y, Li M, Hu RL. Deletion of the L7L-L11L genes attenuates ASFV and induces protection against homologous challenge. *Viruses*, 2021, 13(2): 255.

[56] Kleiboeker SB, Kutish GF, Neilan JG, Lu Z, Zsak L, Rock DL. A conserved African swine fever virus right variable region gene, l11L, is non-essential for growth *in vitro* and virulence in domestic swine. *The Journal of General Virology*, 1998, 79(Pt 5): 1189–1195.

[57] Oliveros M, García-Escudero R, Alejo A, Viñuela E, Salas ML, Salas J. African swine fever virus dUTPase is a highly specific enzyme required for efficient replication in swine macrophages. *Journal of Virology*, 1999, 73(11): 8934–8943.

[58] Neilan JG, Lu Z, Kutish GF, Zsak L, Burrage TG, Borca MV, Carrillo C, Rock DL. A BIR motif containing gene of African swine fever virus, 4CL, is nonessential for growthin vitroand viral virulence. *Virology*, 1997, 230(2): 252–264.

[59] Reis AL, Goatley LC, Jabbar T, Lopez E, Rathakrishnan A, Dixon LK. Deletion of the gene for the type I interferon inhibitor I329L from the attenuated African swine fever virus OURT88/3 strain reduces protection induced in pigs. *Vaccines*, 2020, 8(2): 262.

[60] O'Donnell V, Risatti GR, Holinka LG, Krug PW, Carlson J, Velazquez-Salinas L, Azzinaro PA, Gladue DP, Borca MV. Simultaneous deletion of the 9GL and UK genes from the African swine fever virus *Georgia* 2007 isolate offers increased safety and protection against homologous challenge. *Journal of Virology*, 2017, 91(1): e01760-16.

[61] Chen WY, Zhao DM, He XJ, Liu RQ, Wang ZL, Zhang XF, Li F, Shan D, Chen HF, Zhang JW, Wang LL, Wen ZY, Wang XJ, Guan YT, Liu JX, Bu ZG. A seven-gene-deleted African swine fever virus is safe and effective as a live attenuated vaccine in pigs. *Science China Life Sciences*, 2020, 63(5): 623–634.

[62] Reis AL, Abrams CC, Goatley LC, Netherton C, Chapman DG, Sanchez-Cordon P, Dixon LK. Deletion of African swine fever virus interferon inhibitors from the genome of a virulent isolate reduces virulence in domestic pigs and induces a protective response. *Vaccine*, 2016, 34(39): 4698–4705.

[63] O'Donnell V, Holinka LG, Gladue DP, Sanford B, Krug PW, Lu XQ, Arzt J, Reese B, Carrillo C, Risatti GR, Borca MV. African swine fever virus *Georgia* isolate harboring deletions of MGF360 and MGF505 genes is attenuated in swine and confers protection against challenge with virulent parental virus. *Journal of Virology*, 2015, 89(11): 6048–6056.

[64] Ramirez-Medina E, Vuono E, O'Donnell V, Holinka LG, Silva E, Rai A, Pruitt S, Carrillo C, Gladue DP, Borca MV. Differential effect of the deletion of African swine fever virus virulence-associated genes in the induction of attenuation of the highly virulent *Georgia* strain. *Viruses*, 2019, 11(7): 599.

[65] O'Donnell V, Holinka LG, Sanford B, Krug PW, Carlson J, Pacheco JM, Reese B, Risatti GR, Gladue DP, Borca MV. African swine fever virus *Georgia* isolate harboring deletions of 9GL and MGF360/505 genes is highly attenuated in swine but does not confer protection against parental virus challenge. *Virus Research*, 2016, 221: 8–14.

[66] Gallardo C, Sánchez EG, Pérez-Núñez D, Nogal M, de León P, Carrascosa ÁL, Nieto R, Soler A, Arias ML, Revilla Y. African swine fever virus (ASFV) protection mediated by NH/P68 and NH/P68 recombinant live-attenuated viruses. *Vaccine*, 2018, 36(19): 2694–2704.

[67] Zhuo YS, Guo ZH, Ba TT, Zhang C, He LH, Zeng CP, Dai HC. African swine fever virus MGF360-12L inhibits type I interferon production by blocking the interaction of importin α and NF-κB signaling pathway. *Virologica Sinica*, 2021, 36(2): 176–186.

[68] Hurtado C, Granja AG, Bustos MJ, Nogal ML, González de Buitrago G, de Yébenes VG, Salas ML, Revilla Y, Carrascosa AL. The C-type lectin homologue gene (EP153R) of African swine fever virus inhibits apoptosis both in virus infection and in heterologous expression. *Virology*, 2004, 326(1): 160–170.

[69] Teklue T, Wang T, Luo YZ, Hu RL, Sun Y, Qiu HJ. Generation and evaluation of an African swine fever virus mutant with deletion of the CD2v and UK genes. *Vaccines*, 2020, 8(4): 763.

[70] Dixon L, Sánchez-Cordón P, Galindo I, Alonso C. Investigations of pro- and anti-apoptotic factors affecting African swine fever virus replication and pathogenesis. *Viruses*, 2017, 9(9): 241.

[71] Nogal ML, González de Buitrago G, Rodríguez C, Cubelos B, Carrascosa AL, Salas ML, Revilla Y. African swine fever virus IAP homologue inhibits caspase activation and promotes cell survival in mammalian cells. *Journal of Virology*, 2001, 75(6): 2535–2543.

[72] Zhang FQ, Moon A, Childs K, Goodbourn S, Dixon LK. The African swine fever virus DP71L protein recruits the protein phosphatase 1 catalytic subunit to dephosphorylate eIF2alpha

and inhibits CHOP induction but is dispensable for these activities during virus infection. *Journal of Virology*, 2010, 84(20): 10681–10689.

[73] Barber C, Netherton C, Goatley L, Moon A, Goodbourn S, Dixon L. Identification of residues within the African swine fever virus DP71L protein required for dephosphorylation of translation initiation factor eIF2α and inhibiting activation of pro-apoptotic CHOP. *Virology*, 2017, 504: 107–113.

[74] Banjara S, Shimmon GL, Dixon LK, Netherton CL, Hinds MG, Kvansakul M. Crystal structure of African swine fever virus A179L with the autophagy regulator beclin. *Viruses*, 2019, 11(9): 789.

[75] Brun A, Rivas C, Esteban M, Escribano JM, Alonso C. African swine fever virus gene A179L, a viral homologue of bcl-2, protects cells from programmed cell death. *Virology*, 1996, 225(1): 227–230.

[76] Revilla Y, Cebrián A, Baixerás E, Martínez-A C, Viñuela E, Salas ML. Inhibition of apoptosis by the African swine fever virus bcl-2 homologue: role of the BH_1 domain. *Virology*, 1997, 228(2): 400–404.

[77] Hernaez B, Cabezas M, Muñoz-Moreno R, Galindo I, Cuesta-Geijo MA, Alonso C. A179L, a new viral Bcl2 homolog targeting Beclin 1 autophagy related protein. *Current Molecular Medicine*, 2013, 13(2): 305–316.

[78] Abrams CC, Chapman DAG, Silk R, Liverani E, Dixon LK. Domains involved in calcineurin phosphatase inhibition and nuclear localisation in the African swine fever virus A238L protein. *Virology*, 2008, 374(2): 477–486.

[79] Granja AG, Sabina P, Salas ML, Fresno M, Revilla Y. Regulation of inducible nitric oxide synthase expression by viral A238L-mediated inhibition of p65/RelA acetylation and p300 transactivation. *Journal of Virology*, 2006, 80(21): 10487–10496.

[80] Correia S, Ventura S, Parkhouse RM. Identification and utility of innate immune system evasion mechanisms of ASFV. *Virus Research*, 2013, 173(1): 87–100.

[81] Oliveira VL, Almeida SCP, Soares HR, Crespo A, Marshall-Clarke S, Parkhouse RME. A novel TLR3 inhibitor encoded by African swine fever virus (ASFV). *Archives of Virology*, 2011, 156(4): 597–609.

[82] Wang XX, Wu J, Wu YT, Chen HJ, Zhang SF, Li JX, Xin T, Jia H, Hou SH, Jiang YT, Zhu HF, Guo XY. Inhibition of cGAS-STING-TBK_1 signaling pathway by DP96R of ASFV China 2018/1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, 506(3): 437–443.

[83] Afonso CL, Piccone ME, Zaffuto KM, Neilan J, Kutish GF, Lu Z, Balinsky CA, Gibb TR, Bean TJ, Zsak L, Rock DL. African swine fever virus multigene family 360 and 530 genes affect host interferon response. *Journal of Virology*, 2004, 78(4): 1858–1864.

[84] Golding JP, Goatley L, Goodbourn S, Dixon LK, Taylor G, Netherton CL. Sensitivity of African swine fever virus to type I interferon is linked to genes within multigene families 360 and 505. *Virology*, 2016, 493: 154–161.

[85] Redrejo-Rodríguez M, Ishchenko AA, Saparbaev MK, Salas ML, Salas J. African swine fever virus AP endonuclease is a redox-sensitive enzyme that repairs alkylating and oxidative damage to DNA. *Virology*, 2009, 390(1): 102–109.

[86] Oliveros M, Yáñez RJ, Salas ML, Salas J, Viñuela E, Blanco L. Characterization of an African swine fever virus 20-kDa DNA polymerase involved in DNA repair. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272(49): 30899–30910.

[87] Ischenko AA, Saparbaev MK. Alternative nucleotide incision repair pathway for oxidative DNA damage. *Nature*, 2002, 415(6868): 183–187.

[88] Li CY, Chai Y, Song H, Weng CJ, Qi JX, Sun YP, Gao GF. Crystal structure of African swine fever virus dUTPase reveals a potential drug target. *mBio*, 2019, 10(5): e02483-19.

[89] Liang R, Wang G, Zhang D, Ye G, Li MX, Shi YJ, Shi JL, Chen HC, Peng GQ. Structural comparisons of host and African swine fever virus dUTPases reveal new clues for inhibitor development. *Journal of Biological Chemistry*, 2021, 296: 100015.

Nonessential genes of African swine fever virus: nothing or something?

Rui Luo[1,2], Li Pan[2], Yuan Sun[2*], Shujian Huang[1*], Hua-Ji Qiu[1,2*]

[1] College of Life Science and Engineering, Foshan University, Foshan 528231, Guangdong Province, China

[2] State Key Laboratory of Veterinary Biotechnology, Harbin Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150069, Heilongjiang Province, China

Abstract: African swine fever (ASF) is a hemorrhagic and fatal infectious disease caused by African swine fever virus (ASFV). ASF is endemic or epidemic in Africa, Asia, and Europe and causes huge economic losses to the pig industry. ASFV has a large DNA genome encoding more than 150 proteins, including many nonessential genes-encoded proteins associating with ASFV virulence, viral replication, immunoescape and unknown functions. Currently, a number of ASF live attenuated vaccines have been developed by deleting virulence-related nonessential genes. Generally, these vaccines have safety concerns, although they are able to provide partial to full protection. Systematic identification of more nonessential genes, especially virulence-related genes, will not only contribute to the development of safer gene-deleted ASF vaccines, but also benefit the understanding of the ASF pathogenesis. This review systematically summarizes the functions of known nonessential genes of ASFV, with focus on those involved in virulence, regulation of viral replication and escape of host antiviral immunity, and puts forward suggestions for the identification and functional study of unknown nonessential genes of ASFV.

Keywords: African swine fever, African swine fever virus, nonessential genes, virulence, immunoevasion

(本文责编：李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (U20A2060, 32072854, 32072855, 32072866) and by the Key Realm R&D Program of Guangdong Province (2019B020211003)

*Corresponding authors. Hua-Ji Qiu, Tel/Fax: +86-451-51051708, E-mail: qiuhuaji@caas.cn; Shujian Huang, E-mail: sjhuang.foshan@163.com; Yuan Sun, E-mail: sunyuan@caas.cn

Received: 15 March 2021; Revised: 7 June 2021; Published online: 28 September 2021