杆状病毒与宿主的相互作用*

张艳华　彭建新**　洪华珠

（华中师范大学昆虫研究所　武汉　430079）

摘要：根据一些病毒基因、宿主因子的功能，对杆状病毒和宿主之间的相互作用与相互关系在分子水平上作了简要综述。

关键词：杆状病毒，宿主，相互作用

中图分类号：Q939.4　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0253-2654（2003）01-0081-06

杆状病毒是一类具囊膜的 DNA 病毒，其典型特征为病毒粒子呈杆状，基因组为双链环状 DNA 分子。病毒在宿主细胞核中复制增殖，宿主范围仅限节肢动物，且主要集中在昆虫纲鳞翅目。不同杆状病毒基因组大小范围在 80-180Kb。杆状病毒科包括两个属：核型多角体病毒属和颗粒体病毒属。目前有关杆状病毒的分子生物学、生物化学和遗传学的研究主要集中于核型多角体病毒属。杆状病毒在长期进化过程中与其昆虫宿主建立了严格的寄生、相互适应关系，产生相互作用的信息记录并固化于病毒基因组中。比如多角体需在幼虫中肠碱性 pH 值条件下碱解释放病毒粒子发动感染，昆虫宿主中肠的碱性环境及病毒多角体蛋白晶体的碱性溶解性质是两者长期演变的结果。杆状病毒与宿主在多种层次和水平上发生相互作用，但细节目前还知之甚少。宿主蛋白

* 湖北省自然科学基金资助项目（No.2000J112）

** 联系人

收稿日期：2001-12-17，修回日期：2002-02-25

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部　http://journals.im.ac.cn

参与杆状病毒感染程序的研究信息较鲜见，有关病毒基因、病毒编码蛋白及他们在感染过程中所具有的功能的研究比较多，从中我们可以找出病毒与宿主相互作用的一些线索。本文根据已有信息对杆状病毒与宿主的相互作用在分子水平作扼要阐述。

1 宿主对杆状病毒的作用与影响

1.1 对基因表达的调控 在感染的昆虫细胞中，杆状病毒基因的表达和 DNA 的复制是级联式的。用受染细胞脉冲标记的特异性蛋白、蛋白质合成抑制剂（如放线菌酮）等进行的实验和目前主要采用的瞬时表达检测技术都可证明，杆状病毒基因的表达具有时序性[1]。在病毒 DNA 复制前表达的称为早期基因，从 DNA 复制开始时表达的称为晚期基因。早期基因在杆状病毒基因的级联或表达调控和病毒与宿主细胞的相互作用中，起着重要作用。

杆状病毒脱壳进入核内后，还没进行复制的 DNA 首先进行转录。病毒早期的转录被 α-鹅膏蕈碱抑制，所以宿主 RNA 聚合酶Ⅱ介导绝大多数早期基因的转录。宿主 RNA 聚合酶介导早期基因转录的结果，导致晚期基因的活化与表达，从而使病毒基因的表达井然有序[1]。宿主 RNA 聚合酶是病毒早期基因表达中最为重要的宿主成分，在病毒的生活周期中起着某种支配性作用。由于宿主 RNA 聚合酶Ⅱ介导早期基因的转录，所以病毒早期启动子必须能被宿主因子，特别是宿主 RNA 聚合酶所识别。杆状病毒早期启动子具有较为复杂有序的结构以便宿主转录因子更好的发挥功能。运用电泳迁移率变动分析（EMSA）来鉴定宿主蛋白与早期启动子相互作用发现宿主因子至少识别和结合于两种序列框：$^{T}/_{A}$GATA $^{A}/_{G}$ 和 CACGTG[2,3]。有一种可能即在瞬时表达检测中宿主因子结合于这些序列框能够激活 RNA 聚合酶Ⅱ介导的转录[2]。病毒启动子具有这些能被真核生物转录因子识别的序列使得它们的早期基因能在宿主的各种组织和细胞具有活性。*PE*38 基因是杆状病毒极早期基因，它的转录受宿主转录因子的调控，表达不依赖任何病毒自身蛋白成分。Krappa 及其同事应用足印法和电泳迁移率变动分析技术鉴别了宿主细胞转录因子 SfNP-1，且定位了 *PE38* 基因启动子上游调控元件中 SfNP-1 识别与结合的碱基序列，但 SfNP-1 的功能尚待探究。*gp64* 基因早期启动子的转录不需病毒基因产物，它的表达同样受宿主转录因子的调节。Kogan 和 Blissard 采用上述类似方法分析和测定 Sf 细胞，研究显示宿主转录因子特异性的结合到 *gp64* 早期启动子上游调节区的 GATA 和 CACTG 序列。因此 Sf 细胞中至少有两类转录因子与 *gp64* 早期启动子产生作用，一种是 GATA-结合蛋白，另一种是 CACGTG-结合蛋白，CACGTG 类转录因子具有调节基因表达的功能。宿主转录因子对杆状病毒早期基因的表达具有重要的调节作用，研究宿主转录因子对杆状病毒早期基因表达的作用和影响，实际是在深层次探讨病毒与宿主的相互关系。杆状病毒早期基因的表达依赖于宿主转录系统和转录因子，这种依赖性是杆状病毒与宿主在分子水平上相互作用的典型例证。

杆状病毒晚期基因表达过程中，宿主成分担负何种功能目前还不清楚。有人已鉴定出一相对分子质量为 30Ku 的宿主磷蛋白，此蛋白与 AcMNPV 多角体蛋白启动子有很高的亲和力[4]。

1.2 宿主 DNA 插入对病毒的作用 宿主细胞 DNA 插入杆状病毒基因组的例子已有报道，而且有几篇综述文章对它作了仔细介绍。病毒在细胞培养中连续传代后，分离出几个形成少多角体遗传表型突变株（few polyhedra FP）。这引起了人们的重视，研究发

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

现是由于宿主 DNA 插入病毒基因组造成的。大多数少多角体遗传表型突变株 (few polyhedra FP) 的形成或者是由于宿主转作因子的插入，或者是由于 *FP* 基因在大约 36 图谱单位处缺失造成的。*FP* 基因编码一种 25k 基因，该基因与核内核衣壳囊膜的形成及 ODV 包涵体的形成有关[5]。在 *FP* 基因位座内探测到的宿主 DNA 成分通常较小，常插入 TTAA 靶位处[6]。宿主 DNA 插入 AcMNPV 基因组的其他位置和其他杆状病毒基因组也已报道。如鳞翅目的逆转录转座子 "TED" 插入 AcMNPV 基因组 86.7Mu 处[7]；在感染昆虫过程中，Tn 转座子插入 CpGV 基因组中[8]。转座子在基因内或基因附近的插入能够激活或改变基因表达水平，改变基因特异性，改变基因表达时序进程，所以转座子对病毒的影响与作用是很明显的。但转座子并不总是消极的影响病毒，其也会赋予病毒某些新的功能或使病毒获得新的调控序列，从而加速病毒的进化和变异。而且转座子的插入，很可能决定杆状病毒基因组的大小，成为杆状病毒多样性的一个重要因素。

1.3 宿主肌动蛋白对病毒复制的影响 AcMNPV 是杆状病毒核型多角体家族中的典型代表，它及核型多角体病毒属其他成员的核衣壳的形成发生于被感染宿主细胞的核内，Ohkawa & Volkman 研究发现宿主肌动蛋白丝 (F-actin) 对这一程序的完成是必需的。换句话说，即 AcMNPV 子代的产生依赖于肌动蛋白丝 (F-actin)。由于核型多角体的病毒属基因组具多样性的特征，为便求证是否肌动蛋白丝 (F-actin) 对其他杆状病毒子代的产生起到同样的功能。Kasman & Volkman 做了如下实验：挑选 6 种病毒，测试它们在结合肌动蛋白丝的药物存在条件下产生子代的能力。两种结合药物分别为细胞松弛素系 D (CD) 和 Latrunculin (LA)，CD 结合于肌动蛋白丝 (F-actin) 具倒刺的末端，以阻止 G-actin 于此处的缔合和解离，LA 与 G-actin 以 1:1 的摩尔比结合形成复合物，以致隔离阻止 G-actin 的聚合。所挑选的这一组鳞翅目病毒从系统发育的角度来说囊括了核型多角体病毒属的各类病毒，而且特别包括两种不编码 gp64 蛋白的病毒。实验结果显示对以鳞翅目昆虫为宿主的核型多角体病毒来说 LD 和 CD 抑制病毒子代的产生，即宿主肌动蛋白丝对杆状病毒的复制是必须的。

许多类群的病毒都利用宿主细胞骨架来执行特定的功能，且都发生于细胞质内，唯独 AcMNPV 在核衣壳形成过程中，将肌动蛋白丝 (F-actin) 运输到核内加以利用，是其他类群的病毒所不具有的特征。宿主细胞核内肌动蛋白的具体功能目前还不清楚。

同时在这一实验中还发现，在受染细胞内，病毒编码因子影响肌动蛋白丝的数量及性质，而且病毒复制对 G-actin 库的大小也有影响，G-actin 库的增大或减少与杆状病毒在细胞内的繁殖能力呈正比关系。这说明杆状病毒与宿主的作用是相互、双程的，宿主对病毒产生影响的同时，也引发对病毒的许多"反作用"。

2 杆状病毒对宿主的影响

2.1 对宿主转录、翻译的抑制 杆状病毒早期基因迅速表达的目的之一即是控制宿主细胞的代谢机器，以利于病毒 DNA 的复制。杆状病毒早期基因表达时相向晚期基因表达时相过度的特征之一是宿主转录的明显抑制。宿主蛋白质翻译是否受到抑制尚待确定，但在 AcNPV 感染 Sf 细胞中，宿主蛋白质合成在感染后 6h ~ 10h 开始下降，24h 后似乎完全停止[9]。

2.2 改变激素水平调节宿主的发育 蜕皮甾体为一类甾体类激素，主要功能是诱导昆

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

虫蜕皮或蛹化，调节昆虫生长发育。昆虫血淋巴中的蜕皮甾体的滴度有周期性波动性质，以此调节幼虫的变态。在许多的胚后发育过程中，昆虫的前胸腺被认为是蜕皮激素的最初产生处。用 LdNPV 感染宿主幼虫，在病毒复制期间，受染幼虫的前胸腺的活动能力强于对照组，而且即使在感染的晚期，对照组幼虫已蜕皮，停止分泌蜕皮激素时，受染幼虫的前胸腺仍在执行功能，且腺体的形态结构及超微结构仍维持活跃的分泌状态，这说明 LdNPV 打破了宿主的激素平衡，操纵了宿主幼虫的发育，使昆虫不在受自身激素系统的控制[10]。前胸腺的强烈活动使得受染幼虫血淋巴内蜕皮甾体类激素维持在一个相当高的水平，但高浓度的蜕皮激素并不使得受染幼虫较对照组先行蜕皮，相反却使得幼虫保持活跃的取食状态，阻止了幼虫的变态。这是杆状病毒 *egt* 基因表达的结果，*egt* 基因编码蜕皮甾体尿苷二磷酸葡萄糖转移酶（EGT）受染细胞分泌 EGT 进入血淋巴，EGT 催化 UDP-葡萄糖到蜕皮甾体间的葡萄糖基转移，从而使蜕皮激素以无活性的蜕皮甾体形式存在，所以虽然血淋巴内蜕皮甾体类激素的水平很高，但在 EGT 的存在下以失活状态存在。这样通过病毒复制 表达改变宿主激素水平，调节激素活性来干涉宿主发育的方式，利于病毒自身增殖。

2.3 抑制宿主细胞凋亡 细胞凋亡最初由 Kerr 等在 1972 年描述，细胞凋亡是多细胞生物正常生理过程，同时也是细胞的一种防御策略。许多因素都可诱发细胞凋亡，其中病毒入侵也是其中之一。细胞采用这种自杀行为来阻止病毒复制，对于宿主细胞的这种防护行为，许多病毒都携带有抑制细胞凋亡的基因，抑制凋亡可避免细胞的早亡及病毒 DNA 的片段化，利于病毒自身的复制，是病毒和宿主相互作用的又一例证，目前具有抑制细胞凋亡基因的病毒至少有 3 个科——杆状病毒科、腺病毒科、疱疹病毒科。

最初观察到杆状病毒感染昆虫细胞可诱导细胞凋亡是在 *P35* 基因缺失的 AcMNPV 突变体感染昆虫 Sf21 细胞后。后来的研究证实杆状病毒的 *P35* 蛋白抑制杆状病毒感染引起的细胞凋亡。病毒感染诱导宿主细胞产生杀手蛋白酶（caspase），这种酶可引起细胞自身死亡，现在认为 P35 正是以这个酶为靶目标而抑制了宿主细胞的凋亡[11]。通常认为病毒具抗细胞凋亡基因，能够促进病毒的复制，且增加病毒粒子的产量，但已有报道证实 *P35* 基因的表达可抑制 AcMNPV 和 HaSNPV 感染引起的细胞凋亡，但并不能促进病毒的复制和芽生型子代病毒产量的增加[12]。新近又分离到一个 SLNPV 凋亡抑制基因—slp49[13]，slp49—序列为 1338bp，预计编码一个 49×10^3 的多肽，与 AcMNPV *P35* 基因的氨基酸序列同源性为 48.8%。这类同源基因的发现更有利于深入的阐明此类基因的作用机制，有助于进一步增加对病毒与宿主相互作用关系的认识。

除了 *P35* 基因外，还在 OpMNPV、CpGV、EppoMNPV 等的基因组中鉴定出了凋亡抑制基因，这些功能同源于 P35 的蛋白被命名为细胞凋亡抑制因子或 IAP 蛋白，其中从 EppoMNPV 中鉴定出的 4 种 *iap* 基因中 *iap*-1 和 *iap*-2 具凋亡抑制功能，而 *iap*-3 和 *iap*-4 则无。另外，杆状病毒的 PE38 蛋白能够增强转录激活因子 IE-1 诱导的细胞凋亡，但 PE38 蛋白独立存在时无抑制凋亡的作用。

由此可见杆状病毒有很多基因产物可抑制细胞凋亡，以利于使细胞长时间的存活，使病毒自身获得最大的生长优势。研究细胞凋亡诱导因子发现[14]，AcMNPV*gp64* 基因编码的 gp64 膜融合蛋白可能是一种细胞凋亡诱导因子，当细胞受病毒攻击时，gp64 蛋白可能促进病毒对细胞的侵染，而对另外一些种类的细胞 gp64 蛋白则可能启动细胞凋亡的发生。这对于杆状病毒与宿主的相互关系又开拓了一个新的领域，对于更全面的

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

了解两者的相互作用关系有很大的帮助，值得深入研究。

2.4 阻止宿主细胞的周期进程 *ie-2* 是 AcMNPV 的极早期基因，在细胞培养中进行瞬时表达检测显示其编码蛋白有 3 种功能，其中之一即是阻止多种细胞系的细胞周期，包括草地贪夜蛾（*Spodoptra frugiperda*）和粉蚊夜蛾（*Trichoplusia ni*）。IE-2 阻止细胞周期于 S 期，转染细胞无有丝分裂纺锤体的出现，但其 DNA 复制并不受影响。在这一过程中，IE-2 的指环结构至关重要。*ie-1* 基因也具有阻止宿主细胞周期进程的功能，但最终作用于哪一个时期目前还不确定。杆状病毒作用与宿主细胞周期的研究对更深层次的了解病毒的致病机理有重要意义。

2.5 导致宿主死后虫体液化 病毒感染幼虫后，病毒粒子侵染各种组织产生子代病毒，病毒多角体的释放势必要突破宿主的外骨骼。杆状病毒基因编码两种酶—组织蛋白酶（cathepsin）和几丁质酶（chitinas），功能即在于降解（液化）昆虫的外骨骼。缺失这两个基因中任意一个，均会导致幼虫死亡后表皮保持完整，虫体不液化。因此杆状病毒编码的两个基因产物共同作用降解宿主细胞或昆虫虫体与组织，促使病毒多角体释放，利于杆状病毒的水平传播和病毒数量的扩大。另外 BmNPV 基因组中 25KFP 基因产物与被病毒感染引起的虫体液化程序也有关系[15]。

3 结束语

杆状病毒与宿主的相互作用关系是多层次的。从简单的物理吸附，入侵到复杂的操纵宿主代谢系统，抑制宿主细胞凋亡，抑制宿主激素水平等。从对杆状病毒生物化学和分子生物学的基础性研究中，已经发现了许多有意思而且很重要的宿主与病毒相互作用的机制。这些研究为害虫的生物防治，真核生物表达载体系统提供了新的策略。杆状病毒有功能的基因到现在为止才鉴定了一部分，而且对二者关系的研究主要集中在病毒，有关宿主因子功能的研究较少，这方面的工作值得深入开展。我们期待在不远的将来会有许多重要的发现来解开病毒与宿主之间复杂且精密的相互作用关系。

参 考 文 献

[1] 彭建新．杆状病毒分子生物学．武汉：华中师范大学出版社，2000.
[2] Kogan, Blissard G W. J Virology, 1994, **68** (2): 813 ~ 822.
[3] Krappa R, Behn K A. J Virol, 1992, **66** (6): 3494 ~ 3503.
[4] Burma S Mukherjec B. Journal of Biological Chemistry, 1994, **269**: 2750 ~ 2757.
[5] Beames B, Summrs M D. Virology, 1988, **162** (1): 206 ~ 220.
[6] Beames B, Summers M D. Virology, 1990, **174**: 354 ~ 363.
[7] Friesen P D, Nissen M S. Mol Cell Biol, 1990, **10**: 3067 ~ 3077.
[8] Jehle J A, Fritsch E. Virology, 1995, **207** (2) 369 ~ 379.
[9] Garsten E B, Tjia S T. Virology, 1979, **99**: 368 ~ 398.
[10] Eun J P, Chin M Y, John P, *et al*. Journal of General Virology, 1996, **77**: 547 ~ 554.
[11] Bertin J, Mendrysa S M, Lacount D J, *et al*. J Virology, 1996, **70**: 6251 ~ 6259.
[12] Gershburg E, Rivkin H, Chjanovsky N. Journal of Virology, 1997, **71**: 7593 ~ 7599.
[13] 杜全胜，齐义鹏，Nor Chejanovsky. 武汉大学学报，1998，**44** (4)：521 ~ 522.
[14] 代小江，庞　义．中山大学学报，1998，**37** (3)：7 ~ 12.
[15] Susumu K. Journal of General Virology, 2000, **81** (5): 1403 ~ 1411.

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn