

# 杆状病毒介导外源基因在哺乳动物细胞中表达的研究进展

田飞鹏<sup>1,2</sup> 曹轶梅<sup>1</sup> 卢曾军<sup>1</sup> 高云英<sup>2</sup> 刘在新<sup>1\*</sup>

(1. 中国农业科学院兰州兽医研究所 家畜疫病病原生物学国家重点实验室 国家口蹄疫参考实验室 农业部畜禽病毒学重点开放实验室 甘肃 兰州 730046)  
(2. 西北农林科技大学 动物医学院 陕西 杨凌 712100)

**摘要:** 杆状病毒(Baculovirus)是一种以昆虫为唯一宿主的病毒,可用做生物杀虫剂或作为表达载体在昆虫细胞中大量表达外源蛋白,制备疫苗。研究发现,在哺乳动物细胞中携带哺乳动物启动子的重组杆状病毒能启动下游外源基因的表达但病毒不能在哺乳动物细胞中增值,对细胞毒性小,转导成功的细胞可以稳定传代并有效表达外源基因,哺乳动物细胞比昆虫细胞对蛋白质具有更好的翻译后修饰,表达出的蛋白结构更接近天然蛋白。因此,杆状病毒可作为一种新型的哺乳动物细胞基因转移载体,用于表达外源基因及作为一种基因治疗载体,具有巨大潜力,日益受到人们的关注。本文对杆状病毒作为一种表达载体在哺乳动物细胞中表达的研究进展进行了综述。

**关键词:** 杆状病毒, 外源基因, 哺乳动物细胞

## Recent Advances on the Baculovirus-mediated Expression of Foreign Gene in Mammalian Cells

TIAN Fei-Peng<sup>1,2</sup> CAO Yi-Mei<sup>1</sup> LU Zeng-Jun<sup>1</sup> GAO Yun-Ying<sup>2</sup> LIU Zai-Xin<sup>1\*</sup>

(1. Lanzhou Veterinary Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, State Key Laboratory of Veterinary Etiological biology, National Foot-and-Mouth Disease Reference Laboratory, Key Laboratory of Animal Virology of Ministry of Agriculture, Lanzhou, Gansu 730046, China)

(2. College of Veterinary Medicine, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** Baculovirus is an insect virus that naturally infects and replicates in insect cells. It has been employed as bioinsecticide and also for production of recombinant proteins and vaccines. It was found by several studies that baculoviruses harboring mammalian expression cassettes could efficiently express reporter genes in mammalian cells. Benefit from the low cytotoxicity and non-replication nature in mammalian cells, the transduced cells could stably passage and effectively express foreign genes. Another benefit of this expression system is the advanced post-translational modification of expressed proteins. All the advantages mentioned above have captured growing attention as a novel vector for protein expression and *in vivo* gene therapy. In this article, the progress of baculovirus as a expression vector in mammalian cells was reviewed.

基金项目: 国家 863 计划项目(No. 2006AA10A204); “十一五”国家科技支撑计划项目(No. 2006BAD06A03)

\* 通讯作者: Tel: 86-931-8342587; ✉ liukey@public.lz.gs.cn

收稿日期: 2009-04-28; 接受日期: 2009-07-20

**Keywords:** Baculovirus, Foreign gene, Mammalian cells

杆状病毒在分类上属于杆状病毒科, 包括颗粒体病毒属和核形多角体病毒属, 环状双链DNA以超螺旋方式包裹在衣壳内形成杆状病毒颗粒。全世界已发现 600 多种杆状病毒, 其中研究最深入的是苜蓿根纹夜蛾核型多角体病毒(Autographa californica nuclear polyhedrosis virus, AcNPV)。20 世纪 80 年代后期杆状病毒已被成功开发为基因表达的载体。与其他真核表达系统相比, 杆状病毒表达系统表达水平高, 能进行翻译后的修饰加工, 克隆容量大, 能同时表达多个基因, 宿主范围广, 可支持多种病毒共感染, 有利于表达寡聚蛋白复合体, 适用于进行大规模培养<sup>[1]</sup>, 尤其是杆状病毒在细胞内可以产生病毒样蛋白颗粒(Virus-like particle, VLP), VLP 不含病毒核酸, 因此不具有感染能力, 但保持了完整病毒颗粒所具有的免疫原性, 可诱导机体产生较强的抗病毒免疫反应<sup>[2]</sup>, 在抗病毒性疾病的预防和治疗性疫苗及诊断试剂的研发方面具有巨大的应用前景。杆状病毒是一类宿主专一的昆虫病毒, 但研究发现杆状病毒也可以进入哺乳动物细胞, 在哺乳动物细胞启动子的存在下可以介导外源基因在哺乳动物细胞内表达, 但杆状病毒本身并不能在哺乳细胞中复制增值并且不使细胞病变, 转导成功的细胞可以稳定传代且能有效表达外源基因, 表达出的外源蛋白结构更接近天然蛋白。鉴于上述众多优点, 人们希望能利用杆状病毒开发出一种优良的哺乳动物细胞表达载体。

## 1 杆状病毒与哺乳动物细胞

杆状病毒的天然宿主是昆虫和无脊椎动物, 并不能感染脊椎动物。研究显示杆状病毒粒子能够被哺乳动物等非特异宿主来源的组织培养细胞所吞噬, 但其基因组 DNA 无法在非特异宿主细胞中复制和表达<sup>[3]</sup>。进一步研究发现, 杆状病毒进入哺乳动物细胞后, 只有在合适的启动子作用下, 病毒携带的外源基因才能实现表达。

Hofmann<sup>[4]</sup>等首次报道了利用巨细胞病毒(CMV)极早期基因 *ie1* 启动子, 以 AcNPV 作为载体, 实现外源标记基因 *luc*(Luciferase, 荧光素酶)在人肝细胞中进行高效表达。随后, Shoji 等<sup>[5]</sup>发现杆状病毒在 HeLa、COS-7、KATO-III、FS-L3、CPK12 等细

胞株中也具高水平表达的能力。随着研究的深入, 越来越多的对杆状病毒敏感的哺乳动物细胞被人们发现, 如人源的 Huh7、HepG2 细胞, 鼠源的 CHO、BHK 细胞, 猪源的 CPK、FS-L3 细胞, 牛来源的 MDB、BT 细胞等常规细胞<sup>[6]</sup>, 还包括一些特殊组织来源的细胞, 如兔主动脉平滑肌细胞<sup>[7]</sup>、人原代包皮细胞<sup>[8]</sup>等。此外, 杆状病毒对小鼠原代培养肾细胞<sup>[9]</sup>及不同哺乳动物骨髓来源间充质干细胞(Bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BMSCs)<sup>[10]</sup>等原代细胞也表现出良好的转导效率, 并且对这些原代细胞的生理特性无明显影响<sup>[4,11]</sup>。利用杆状病毒感染哺乳动物细胞的特性, 诸多外源蛋白在哺乳动物细胞中成功表达。Yoshida 等<sup>[12]</sup>用包含杆状病毒 polyhedrin 启动子和 CMV 启动子的杆状病毒载体在 COS7 和 HepG2 细胞中成功表达了伯氏疟原虫孢子蛋白(Plasmodium berghei circumsporozoite protein, PbCSP)。Kinnunen 等<sup>[13]</sup>以杆状病毒为体内基因投递载体在家兔眼内层视网膜细胞、感光细胞及视网膜色素上皮细胞中成功表达血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor D, VEGF-D)。此外, 利用杆状病毒, 一些病毒样颗粒也在哺乳动物细胞中获得成功组装, 如丁型肝炎病毒(Hepatitis delta virus, HDV)<sup>[14]</sup>、沙波病毒(Sapovirus)<sup>[15]</sup>等。

上述结果促使人们对杆状病毒与哺乳动物细胞的关系产生了浓厚的兴趣。杆状病毒通过内吞进入昆虫细胞, 内吞泡中的低 pH 条件可诱导病毒外膜蛋白 gp64 的构象发生变化, 使膜融合区域暴露并与内吞泡膜融合释放出病毒核衣壳<sup>[16]</sup>。在转导实验中, 加入可抑制内吞体形成的药物——氯化喹啉, 可明显抑制报告基因在哺乳动物细胞中的表达<sup>[4]</sup>, Con-dreay 等<sup>[17]</sup>通过电镜观察杆状病毒转导后的细胞, 发现杆状病毒粒子存在于 CHO 细胞的内吞体中, 这表明杆状病毒侵入哺乳动物细胞的方式与感染昆虫细胞是相似的。杆状病毒与哺乳动物细胞表面受体分子的结合是杆状病毒进入哺乳动物细胞的重要步骤, 而静电吸引在二者结合的最初阶段起重要作用<sup>[18,19]</sup>。实验表明, 杆状病毒囊膜蛋白 gp64 在吸附哺乳动物细胞和内体逃逸的过程中发挥着重要作用<sup>[20]</sup>。缺失 gp64 基因的杆状病毒无法进入哺乳动物细胞<sup>[21]</sup>, 而高效表达 gp64 蛋白的杆状病毒可显著提

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

高报告基因在哺乳动物细胞中的表达效率,哺乳动物细胞表面的磷脂充当了 gp64 的“码头”,从而方便了病毒进入细胞<sup>[22]</sup>。杆状病毒进入哺乳动物细胞后,就被运往细胞核内。起初研究人员认为,杆状病毒从内吞体中的逃逸阻碍了其对于哺乳动物细胞的转导效率,但 Barsoum 等<sup>[23]</sup>发现直接将病毒粒子注入细胞质并不影响病毒进入细胞核的效率,这表明病毒从内吞体的逃逸并不是影响转导效率的重要因素。杆状病毒核衣壳在细胞质中似乎能诱导肌丝的形成,以便其进入细胞核,在转导实验中加入细胞松弛素可显著降低外源基因在哺乳动物细胞中的表达,但并不影响杆状病毒核衣壳进入靶细胞的细胞质<sup>[24]</sup>。通过核孔进入细胞核后,病毒核衣壳在细胞核内脱壳,释放出基因组,这一过程与细胞是否处于有丝分裂状态没有很大关系。微管解聚剂可以提高病毒进入细胞核的效率,这表明微管可阻碍病毒向细胞核内的运输<sup>[25]</sup>。总之,对于细胞表面是否存在特异性受体、病毒粒子的侵入、核衣壳在细胞内转运、病毒基因组与细胞染色体的相互关系等诸多问题仍需要深入细致的研究。

## 2 提高杆状病毒对哺乳动物细胞转导效率策略的研究

在 Hofmann<sup>[4]</sup>等报道了以杆状病毒为载体在肝细胞中高效表达外源蛋白后,人们都为此发现十分振奋并认为杆状病毒即将成为一种良好的哺乳动物细胞表达载体,并具有其他哺乳动物细胞表达载体不可比拟的优势,然而事实并不像人们所想象的那么乐观,虽然在哺乳动物细胞启动子作用下杆状病毒介导的外源基因可在大多数哺乳动物细胞中实现表达,但表达量较低。因此,如何提高表达量是许多研究者目前关注的焦点。

选用合适的启动子是实现重组杆状病毒介导的外源基因在哺乳动物细胞中高效表达的有效途径。哺乳动物细胞启动子常见的有 SV40、CMV、RSV 及复合的 CAG 启动子,CAG 启动子的活性要高于 CMV 及其他启动子,但研究表明哪种启动子的效率更高是以不同启动子与报告基因组合后在不同细胞株中表达效率的差异而定的<sup>[5,17,26]</sup>。虽然 CAG、CMV 启动子在哺乳动物细胞中有较高的活性,但在昆虫细胞中的活性很低,这势必影响了包含外源基因的

重组杆状病毒在昆虫细胞中的产量,进一步影响重组杆状病毒对哺乳动物细胞的转导效率。Liu 等<sup>[27]</sup>发现杆状病毒早晚期启动子(Early to late promoter)在哺乳动物中也有较强的活性,可作为一种在昆虫细胞和哺乳动物细胞间起穿梭作用的启动子。这不仅可以解决重组病毒在昆虫细胞中产量低的不足,而且依赖报告基因的表达,在转导哺乳动物细胞之前就可鉴定重组表达载体的构建是否成功。Gao 等<sup>[28]</sup>发现白斑综合症病毒(White spot syndrome virus, WSSV)ie1 启动子具有与杆状病毒早晚期启动子相同的功能,而两者的差异在于 WSSV ie1 启动子在哺乳动物细胞中的活性并不依赖于杆状病毒基因组,不需要激活重组病毒早期快反应基因就可以直接起始转录过程,具有明显的优势。此外,采用合适的表达调控元件对提高靶基因的表达效率具有明显的作用。实验证明 hr 元件可用于哺乳动物细胞中增强非杆状病毒来源启动子的活性<sup>[29,30]</sup>。最近 Liu<sup>[31]</sup>等发现,杆状病毒的 RING 蛋白 IE2 可特异地结合 CMV 启动子,并在杆状病毒增强子序列 hr1 存在下显著增强 CMV 启动子在哺乳动物细胞中的活性,可使外源基因的表达效率提高 122 倍,并发现 CMV 启动子的两段序列对于 IE2 的增强作用是必需的。同时,IE2 也可以增强 SV40 启动子的活性,其原因因为这两段序列同样存在于 SV40 启动子上。由此可知,IE2 的增强活性和启动子的这两段序列密切相关,并不是 CMV 启动子特异的。

研究显示,将一些外源基因如免疫球蛋白结合区域<sup>[32]</sup>、口蹄疫病毒的 RGD 基序<sup>[33]</sup>、口炎疱疹病毒 G 蛋白(Vesicular stomatitis virus G protein, VSVG)<sup>[34]</sup>等插入到杆状病毒囊膜蛋白 gp64 的氮末端并融合表达,经过囊膜修饰的重组杆状病毒可显著提高外源基因在哺乳动物细胞中的表达效率。尤其是 VSVG 对于多种不同类型和组织来源的哺乳动物细胞具有较好的通用性,能显著增强一些对杆状病毒不敏感的哺乳动物细胞株如 CHO、NIH3T3 等的转导效率<sup>[22,35,36]</sup>,然而经 VSVG 修饰杆状病毒后可增加细胞毒性<sup>[37]</sup>并促使细胞融合<sup>[38]</sup>。随后,研究人员将 VSV-GED(水泡性口炎病毒外功能区,由 21 个氨基酸构成,包括跨膜区域和胞质尾区)融合表达于杆状病毒囊膜蛋白 gp64,对细胞造成的影响则可忽略不计<sup>[39]</sup>。

此外, 一些有效的转导方法可明显提高杆状病毒对哺乳动物细胞的转导效率。如将病毒感染昆虫细胞上清与 PBS 混合, 在 25°C 下孵育哺乳动物细胞 4 h~6 h, 可达到较高的转导效率<sup>[10]</sup>。程通等<sup>[40]</sup>将病毒上清以 PBS 为稀释缓冲液, 室温 600 × g 水平离心 1 h 即可获得高水平的转导效率, 同时不会对靶细胞造成损伤, 优于在 PBS 环境中 27°C 孵育 6 h 的转导效果。有研究认为离心能够增强细胞对病毒的易感性或促进病毒与靶细胞的融合<sup>[41,42]</sup>。程通等的研究表明, 离心转导方法对贴壁培养细胞的转导效率明显高于悬浮培养的细胞, 这说明离心可促进病毒对细胞的附着, 从而提高病毒进入哺乳动物细胞的效率。同时, 该研究也表明杆状病毒对哺乳动物细胞的基因转移效率与病毒的感染剂量成正相关。因此, 一种高效的杆状病毒增值和保存方法是实验顺利进行的保障。Tsai 等<sup>[43]</sup>研究发现用含 FBS 的培养基培养昆虫细胞时, FBS 的含量不应低于 5% (V/V), 否则对杆状病毒的产量有显著影响, pH 6.2、4°C 是保存杆状病毒的最佳条件。同时, 相对于静止培养的细胞来说, 在转速不大于 120 r/min 的情况下悬浮培养的细胞获得的病毒产量要高于静止培养的细胞。

### 3 结语

杆状病毒作为一个优良的表达载体具有巨大的优势, 被广泛用于外源蛋白的表达。鉴于杆状病毒感染哺乳动物细胞的特殊性, 研究者在如何将杆状病毒开发成一种优良的哺乳动物细胞表达载体方面进行了大量研究, 目前研究主要集中在寻找既在昆虫细胞中有很高活性又在哺乳动物细胞中也有较高活性的一种新型高效启动子, 以及研究一些增强子序列和调节蛋白对启动子活性的增强作用。此外, 如何高效筛选稳定表达外源蛋白的转导成功细胞系也是另一主要问题。利用抗生素进行压力筛选可有效地将重组病毒转导成功的哺乳动物细胞筛选出来, 如 Lackne 等<sup>[44]</sup>利用嘌呤霉素加压筛选出稳定表达外源蛋白的人恶性胶质瘤细胞。最近, Karkkainen 等用含 4 个启动子(CAG、T7lac、pPolh 和 p10)的杆状病毒载体, 利用 96 孔板发明了一种可在昆虫细胞和哺乳动物细胞内高效率生产重组杆状病毒并进行快速滴定的外源蛋白表达方法<sup>[45,46]</sup>, 此方法操作简便,

大大提高了实验效率。

杆状病毒除应用于基因表达外还可以作为哺乳动物基因转移载体用于基因治疗、免疫载体的研究, 建立病毒的体外细胞复制模型。此外, 在表面展示系统、固定外源蛋白质以及作为生物纳米材料等方面的研究出现了一些新动向。虽然目前对杆状病毒与哺乳动物细胞相互作用的研究尚不充分, 将杆状病毒载体应用于体内基因转移存在引发补体反应、具免疫原性、可能的未知整合等问题, 但随着人们对杆状病毒研究的深入, 通过在其原有优势基础上继续改进提高, 必能发挥出巨大的应用价值。

### 参 考 文 献

- [1] 兰丽盼, 吴小锋. 昆虫杆状病毒研究和应用新进展. 农业生物技术学报, 2008, 16(6): 1056-1060.
- [2] Lenz P, Day PM, Pang YY, *et al.* Papillomavirus-like particles induce acute activation of dendritic cells. *J Immunol*, 2001, 166(9): 5346-5355.
- [3] Condreay JP, Witherspoon SM, Clay WC, *et al.* Transient and stable gene expression in mammalian cells transduced with a recombinant baculovirus vector. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(1): 127-132.
- [4] Hofmann C, Sandig V, Jennings G, *et al.* Efficient gene transfer into human hepatocytes by baculovirus vectors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(22): 10099-10103.
- [5] Shoji I, Aizaki H, Tani H, *et al.* Efficient gene transfer into various mammalian cells, including non-hepatic cells, by baculovirus vectors. *J Gen Virol*, 1997, 78(Pt10): 2657-2664.
- [6] Hu YC. Baculoviral vectors for gene delivery. *Current Gene Therapy*, 2008, 8: 54-65.
- [7] Airene KJ, Hiltunen MO, Turunen MP, *et al.* Baculovirus-mediated periaxonal gene transfer to rabbit carotid artery. *Gene Ther*, 2000, 7(17): 1499-1504.
- [8] Dwarakanath RS, Clark CL, McElroy AK, *et al.* The use of recombinant baculoviruses for sustained expression of human cytomegalovirus immediate early proteins in fibroblasts. *Virology*, 2001, 284(2): 297-307.
- [9] Liang CY, Wang HZ, Li TX, *et al.* High efficiency gene transfer in to mammalian kidney cells using baculovirus vectors. *Arch Virol*, 2004, 149(1): 51-60.
- [10] 刘正山, 张成, 卢锡林, 等. 杆状病毒转导不同哺乳动物骨髓来源间充质干细胞. 生理学报, 2008, 60(3): 431-436.
- [11] Gao R, McCormick CJ, Arthur MJ, *et al.* High efficiency

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

- gene transfer into cultured primary rat and human hepatic stellate cell using baculovirus vectors. *Liver*, 2002, **22**(1): 15–22.
- [12] Yoshida S, Kawasaki M, Hariguchi N, *et al.* Baculovirus dual expression system in vaccine development: a baculovirus-based vaccine induces strong protection against *Plasmodium berghei* sporozoite challenge. *Infect Immun*, doi:10.1128/IAI.01226-08.
- [13] Kinnunen K, Kalesnykas G, Mahonen AJ, *et al.* Baculovirus is an efficient vector for the transduction of the eye: comparison of baculovirus and adenovirus-mediated intravitreal vascular endothelial growth factor D gene transfer in the rabbit eye. *J Gene Med*, 2009, **11**: 382–389.
- [14] Chiang YW, Wu JC, Wang KC, *et al.* Varied properties of hepatitis-delta virus-like particles produced by baculovirus-transduced mammalian cells. *The Open Biotechnology Journal*, 2007, **1**: 34–40.
- [15] Oka T, Yamamoto M, Miyashita K, *et al.* Self-assembly of sapovirus recombinant virus-like particles from polyprotein in mammalian cells. *Microbiol Immunol*, 2009, **53**: 49–52.
- [16] Hefferon KL, Oomens AG, Monsma SA, *et al.* Host cell receptor binding by baculovirus GP64 and kinetics of virion entry. *Virology*, 1999, **258**(2): 455–468.
- [17] Condreay JP, Witherspoon SM, Clay WC, *et al.* Transient and stable gene expression in mammalian cells transduced with a recombinant baculovirus vector. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**(1): 127–132.
- [18] Duisit G, Saleun S, Douthe S, *et al.* Baculovirus vector requires electrostatic interactions including heparan sulfate for efficient gene transfer in mammalian cells. *J Gene Med*, 1999, **1**(2): 93–102.
- [19] Bilello JP, Cable EE, Myers RL, *et al.* Role of paracellular junction complexes in baculovirus-mediated gene transfer to nondividing rat hepatocytes. *Gene Ther*, 2003, **10**(9): 733–749.
- [20] Hofmann C, Lehnert W, Strauss M. The baculovirus system for gene delivery into hepatocytes. *Gene Ther Mol Biol*, 1998, **1**: 231–239.
- [21] Abe T, Hemmi H, Miyamoto H, *et al.* Involvement of the toll-like receptor 9 signaling pathway in the induction of innate immunity by baculovirus. *J Virol*, 2005, **79**(5): 2847–2858.
- [22] Tani H, Nishijima M, Ushijima H, *et al.* Characterization of cell-surface determinants important for baculovirus infection. *Virology*, 2001, **279**(1): 343–353.
- [23] Barsoum J, Brown R, McKee M, *et al.* Efficient transduction of mammalian cells by a recombinant baculovirus having the vesicular stomatitis virus G glycoprotein. *Hum Gene Ther*, 1997, **8**(17): 2011–2018.
- [24] Van Loo ND, Fortunati E, Ehlert E, *et al.* Baculovirus infection of nondividing mammalian cells: mechanisms of entry and nuclear transport of capsids. *J Virol*, 2001, **75**(2): 961–970.
- [25] Salminen M, Airene KJ, Rinnankoski R, *et al.* Improvement in nuclear entry and transgene expression of baculoviruses by disintegration of microtubules in human hepatocytes. *J Virol*, 2005, **79**(5): 2720–2728.
- [26] Spenger A, Ernst W, Condreay JP, *et al.* Influence of promoter choice and trichostatin A treatment on expression of baculovirus delivered genes in mammalian cells. *Protein Expr Purif*, 2004, **38**(1): 17–23.
- [27] Liu YK, Chu CC, Wu TY. Baculovirus ETL promoter acts as a shuttle promoter between insect cells and mammalian cells. *Acta Pharmacol Sin*, 2006, **27**(3): 321–327.
- [28] Gao H, Wang Y, Li N, *et al.* Efficient gene delivery into mammalian cells mediated by a recombinant baculovirus containing a whispovirus ie1 promoter, a novel shuttle promoter between insect cells and mammalian cells. *J Biotechnol*, 2007, **131**(2): 138–143.
- [29] Lo HR, Chou CC, Wu TY, *et al.* Novel baculovirus DNA elements strongly stimulate activities of exogenous and endogenous promoters. *J Biol Chem*, 2002, **277**(7): 5256–5264.
- [30] Viswanathan P, Venkaiah B, Kumar MS, *et al.* The homologous region sequence(hr1) of autographa californica multinucleocapsid polyhedrosis virus can enhance transcription from non-baculoviral promoters in mammalian cells. *J Biol Chem*, 2003, **278**(52): 52564–52571.
- [31] Liu YY, Wang CH, Hsiao WK, *et al.* Ring and coiled-coil domains of baculovirus IE2 are critical in strong activation of the cytomegalovirus major immediate-early promoter in mammalian cells. *J Virol*, 2009, **83**(8): 3604–3616.
- [32] Mottershead DG, Altham K, Ojala K, *et al.* Baculoviral display of functional scFv and synthetic IgG-binding domains. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, **275**(1): 84–90.
- [33] Matilainen H, Makela AR, Riikonen R, *et al.* RGD motifs on the surface of baculovirus enhance transduction of human lung carcinoma cells. *J Biotechnol*, 2006, **125**(1): 114–126.
- [34] Eidelman O, Schlegel R, Tralka TS, *et al.* PH-dependent fusion induced by vesicular stomatitis virus glycoprotein reconstituted into phospholipid vesicles. *J Biol Chem*, 1984, **259**(7): 4622–4628.
- [35] Huser A, Rudolph M, Hofmann C. Incorporation of decay-accelerating factor into the baculovirus envelope generates complement-resistant gene transfer vectors. *Nat Biotechnol*, 2001, **19**(5): 451–455.

- [36] Pieroni L, Maione D, Monica LN. *In vivo* gene transfer in mouse skeletal muscle mediated by baculovirus vectors. *Hum Gene Ther*, 2001, **12**(8): 871-881.
- [37] Facciabene A, Aurisicchio L, Monica LN. Baculovirus vectors elicit antigen-specific immune responses in mice. *J Virol*, 2004, **78**(16): 8663-8672.
- [38] Lu L, Yu L, Kwang J. Baculovirus surface-displayed hemagglutinin of H5N1 influenza virus sustains its authentic cleavage, hemagglutination activity, and antigenicity. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, **358**(2): 404-409.
- [39] Kaikkonen MU, Raty JK, Airene KJ, *et al.* Truncated vesicular stomatitis virus G protein improves baculovirus transduction efficiency *in vitro* and *in vivo*. *Gene Ther*, 2006, **13**: 304-312.
- [40] 程 通, 杨炳春, 许辰煜, 等. 应用离心方法提高杆状病毒对哺乳动物细胞转导实验效率. *生物工程学报*, 2007, **23**(3): 546-551.
- [41] Hudson JB. Further studies on the mechanism of centrifugal enhancement of cytomegalo virus infectivity. *J Virol Methods*, 1988, **19**: 97-108.
- [42] Tenser RB, Dunstan ME. Mechanisms of herpes simplex virus infectivity enhanced by ultracentrifugal in oculation. *Infect Immun*, 1980, **30**: 193-197.
- [43] Tsai CT, Chan ZR, Lu JT, *et al.* Factors influencing the production and storage of baculovirus for gene delivery: an alternative perspective from the transducing titer assay. *Enz Micro Technol*, 2007, **40**(5): 1345-1351.
- [44] Lackner A, Genta K, Koppensteiner H, *et al.* A bicistronic baculovirus vector for transient and stable protein expression in mammalian cells. *Anal Biochem*, 2008, **380**(1): 146-148.
- [45] Laitinen OH, Airene KJ, Hytonen VP, *et al.* A multipurpose vector system for the screening of libraries in bacteria, insect and mammalian cells and expression *in vivo*. *Nucleic Acids Research*, 2005, **33**(4): e42.
- [46] Karkkainen HR, Lesch HP, Määttä AI, *et al.* A 96-well format for a high-throughput baculovirus generation, fast titering and recombinant protein production in insect and mammalian cells. *BMC Research Notes*, doi: 10.1186/1756-0500-2-63.

征订启事

## 2010 年部分生物、农林类学术期刊联合征订表(2-1)

刊物名称	邮发代号	刊期	年价(元)	网址	E-mail
大豆科学	14-95	双月刊	60		dadoukx@sina.com
动物学研究	64-20	双月刊	150	http://www.zoores.ac.cn	zoores@mail.kiz.ac.cn
动物学杂志	2-422	双月刊	210	http://dwzzz.ioz.ac.cn	journal@ioz.ac.cn
激光生物学报	42-194	双月刊	120	http://www.jgswxb.net	jgswxb@hunnu.edu.cn
菌物学报	2-499	双月刊	480	http://journals.im.ac.cn/jwxtcn/	jwxt@im.ac.cn
昆虫知识	2-151	双月刊	150	http://www.ent-bull.com.cn	entom@ioz.ac.cn
林业科学	82-6	月刊	300	http://www.linyekexue.net	linyqx@forestry.ac.cn
人类学学报	2-384	季刊	100	http://www.ivpp.ac.cn	acta@ivpp.ac.cn
山地农业生物学报	66-66	双月	100	http://web.gzu.edu.cn/jou/jou/	Sd.xb@163.com
生命科学	4-628	月刊	360	http://www.lifescience.net.cn	cbis@sibs.ac.cn
生物工程学报	82-13	月刊	780	http://journals.im.ac.cn/cjbcn/	cjb@im.ac.cn
生物技术通报	18-92	月刊	300		bio-tech@mail.caas.net.cn
生物技术通讯	82-196	双月	150	http://swtx.chinajournal.net.cn	swtx@263.net
生物信息学	14-14	季刊	48	http://xxsw.chinajournal.net.cn	cjbioinformatics@yahoo.cn
微生物学报	2-504	月刊	660	http://journals.im.ac.cn/actamicrocn/	actamicro@im.ac.cn

http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn