

非洲猪瘟病毒编码蛋白功能及疫苗研究进展

安一娜 杨静静 高敏 董彦君*

中国农业大学动物医学院,北京 100193

摘要 非洲猪瘟(African swine fever, ASF)是由非洲猪瘟病毒(African swine fever virus, ASFV)感染引起的急性、高致死性、高度接触传染性猪类疾病,被世界动物卫生组织列为法定需要报告的动物疫病,我国也将其列为一类动物传染性疾病。自1921年首发于非洲,ASF给疫情暴发国带来了巨大的经济损失。然而,ASFV基因组巨大、编码蛋白众多、大量蛋白功能尚不清楚,这严重制约了疫苗的研发。2018年ASFV传入中国,促使政府对非洲猪瘟研究投入加大,推进了相关的研究。近期通过查阅ASFV基因文库,发现ASFV编码的蛋白有159种,其中已知功能的有91种,预测功能的有9种,未知功能的有59种。因此,本文对非洲猪瘟病毒编码蛋白功能及疫苗研究进展进行了更新,为揭示ASFV致病机制及ASF疫苗开发提供相关信息。

关键词 非洲猪瘟;非洲猪瘟病毒;非洲猪瘟病毒编码蛋白;蛋白功能;感染过程;非洲猪瘟疫苗

ASF是ASFV感染引发的猪类疾病,患病猪表现为高热、心率加快、呼吸困难、皮肤发绀、脾及淋巴结等免疫器官水肿出血;不同毒力的毒株感染会导致不同的临床表现,感染后通常在3~10 d内死亡,家猪死亡率接近100%。

ASFV属DNA双链目,非洲猪瘟病毒属,是非洲猪瘟病毒科中唯一的DNA虫媒病毒,这种病毒可通过直接或间接接触感染多种真核生物;ASFV主要侵染猪的巨噬细胞,感染后,病毒的早期复制集中于细胞核,随后转移到细胞质中完成剩下的复制过程,ASFV基因组庞大,随着近几年相关研究的开展,病毒蛋白的结构及功能逐渐清晰,但仍有大量蛋白功能尚不清楚,这极大地制约了对ASF的防控。2019年相关综述总结了50个已知功能的ASFV编码蛋白^[1-11]。近年来,相关研究取得了巨大进展,所以本文将对目前已知功能的91种ASFV编码蛋白及ASF相关疫苗的研究进展进行归纳总结,以为揭示ASFV致病机制及ASF疫苗开发提供相关信息。

1 ASFV 病毒特性

1.1 形态结构

ASFV是一种由多层同心结构域组成的大型双链DNA病毒,外观呈20面体形态,平均直径为220 nm^[1-2]。ASFV独有的5层结构由内而外分别为类核、核壳、内囊膜、核衣壳、外囊膜。病毒的中心是由线性DNA双链装配而成的类核,直径为70~100 nm,包含病毒基因组和核蛋白,如DNA结合蛋白p10和pA104R,类核包含了合成和修饰早期所需的转录因子,其中包括多亚基RNA聚合酶、帽状酶和早期转录因子;类核的外层被核壳蛋白包裹,核壳是一层厚约30 nm的蛋白质层,该结构域主要由聚蛋白pp220和pp62的加工产物以及pS273R蛋白构成^[2];核壳的外周附着一层脂质包膜称为内囊膜,内囊膜主要来源于内质网,蛋白p54^[3]、p17^[4]和pE248R^[5]是其主要组成成分;内囊膜的外层为核衣壳,衣壳的外观为长13 nm、宽5~6 nm的六角形棱柱状,间距为7.4 nm,中间有一个中心孔^[1],蛋白p72

收稿日期:2021-04-14

*通讯作者

安一娜,女,1994年生,博士。

和 pE120R 是核衣壳的主要成分^[6];病毒颗粒的最外层为外囊膜,它是病毒通过质膜出芽时获得的^[7],有报道称 p12^[8]、CD2v (pE402R)^[9]、p24^[10]等均定位于外膜。

1.2 编码蛋白

ASFV 基因共编码 151~167 个开放阅读框 (open reading frames, ORFs)。通过查阅 NCBI 的 ASFV 基因文库发现,目前 ASFV 编码的蛋白有 159 种,

其中已知功能的有 91 种,预测功能的有 9 种,未知功能的有 59 种。将这些已知功能的蛋白按其在感染宿主时发挥的作用可分为六类,分别是:病毒结构蛋白及参与病毒形态发生的蛋白;参与病毒入侵的蛋白;病毒进入细胞后参与病毒复制、mRNA 转录的酶和因子;参与宿主机体免疫调控的蛋白;参与跨膜的蛋白以及多基因家族编码的病毒蛋白^[11](图 1-2)。

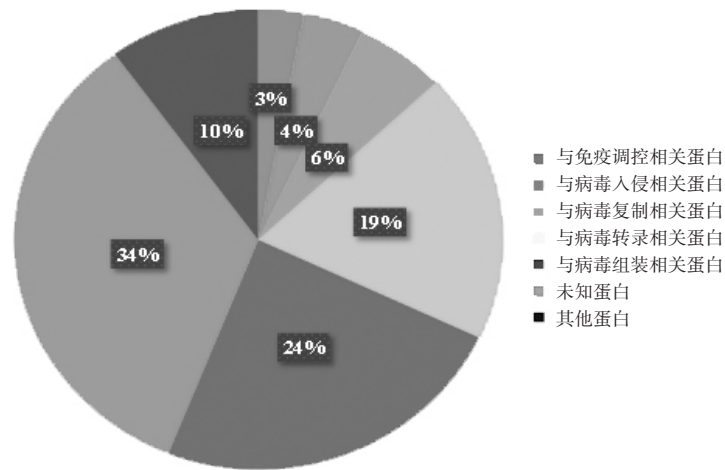
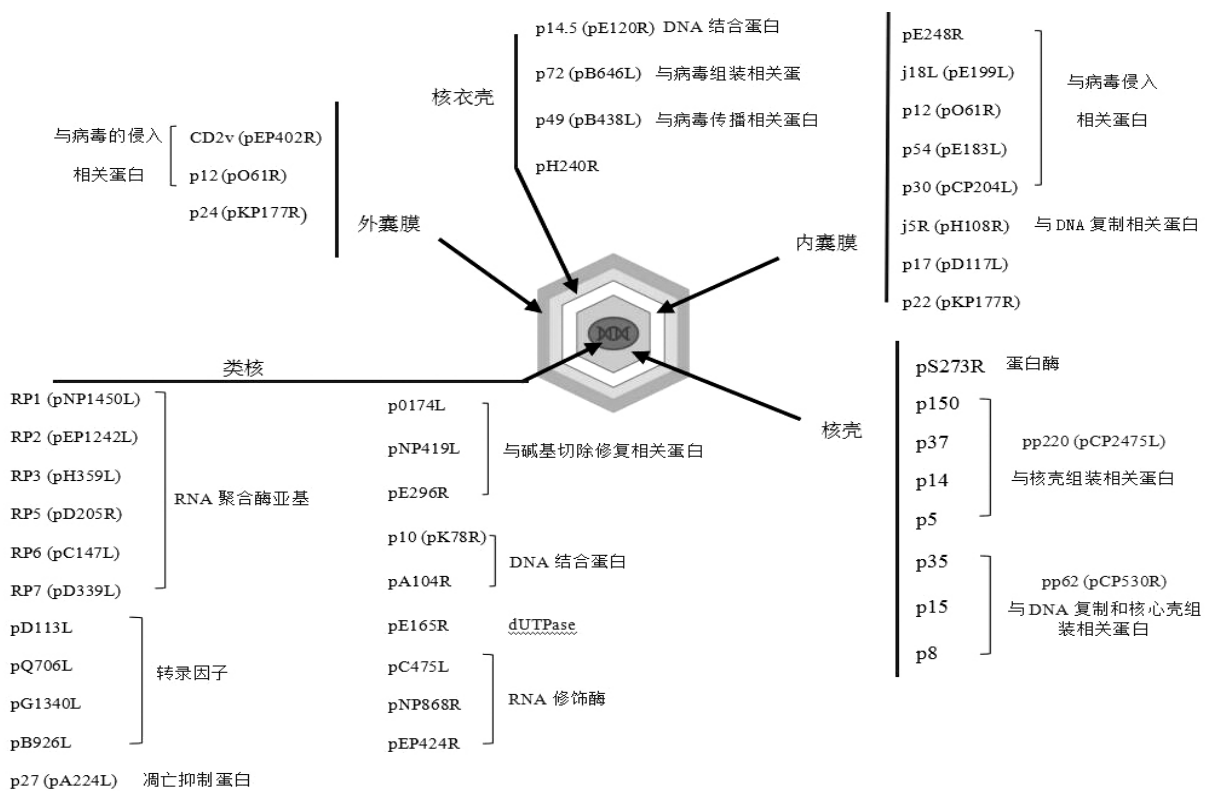


图 1 ASFV 编码蛋白功能分类^[12]



注: ASFV 编码蛋白分布在病毒结构的不同区域,并在病毒复制感染过程中发挥作用。

图 2 非洲猪瘟编码蛋白分布

2 ASFV 感染过程中的相关蛋白

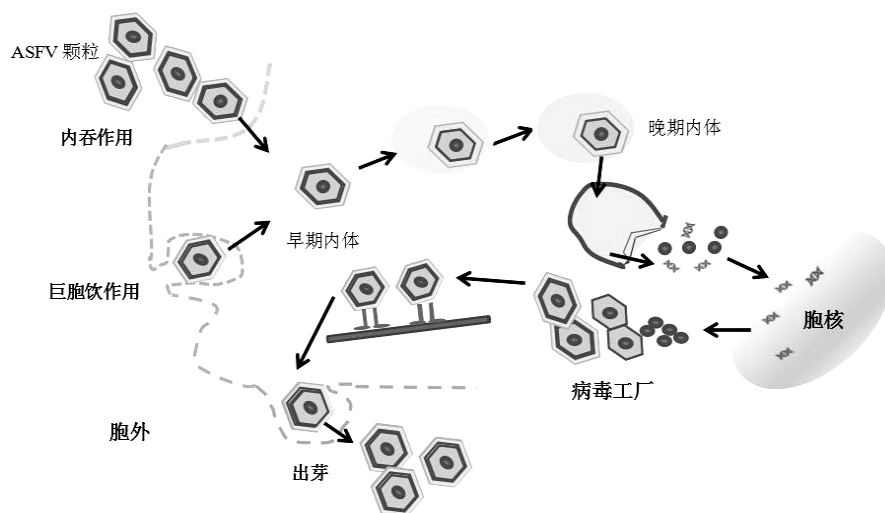
ASFV 复制包括立即-早期-中期-晚期 4 个阶段。ASFV 主要依赖大胞饮、网格蛋白介导的内吞作用进入巨噬细胞,然后沿微管系统被传送至细胞核周围,随后进入核开启病毒复制,早期的表达产物会分布在核周形成病毒工厂;病毒感染晚期,波形蛋白和线粒体包裹着病毒 DNA、膜蛋白、结构蛋白和部分宿主蛋白被招募至病毒工厂,包装形成的病毒粒子利用微管离开病毒工厂到达细胞膜,通过出芽的方式被释放至细胞外(图 3)。

2.1 ASFV 复制过程

1) ASFV 吸附与入侵。ASFV 感染周期始于病毒吸附、入侵宿主细胞。由 O61R 基因编码的 ASFV p12 蛋白,是病毒感染晚期表达的内膜蛋白;研究发现,纯化的 ASFV p12 蛋白与易感的 Vero 细胞作用后能够抑制 ASFV 与 Vero 的结合,表明 p12 和 ASFV 能够识别共同的细胞受体,p12 介导 ASFV 与宿主细胞的吸附,但其发挥作用的机制还有待研究^[13]。除 p12 外,由 CP204L、E183L 基因编码的病毒早期膜蛋白 ASFV p32、ASFV p54 以及由 B646L 基因编码的衣壳蛋白 ASFV p72 均在病毒吸附和入侵易感细胞方面具有重要作用。Gomez-Puertas 等^[14]发现,抗 p72 和抗 p54 的血清均能抑制约 60% 的 ASFV 对 Vero 细胞和猪巨噬细胞的吸附;抗 p32 血清尽管不能抑制病毒吸附,但能抑制 95% 病毒的入侵。由 EP402R 基因编码的 ASFV CD2v 蛋白是病毒外膜蛋

白,具有类似于黏附受体 CD2 的结构,所以能够吸附具有 CD2 配体的猪红细胞^[15]。此外,pEP153R 也参与了病毒趋向和吸附宿主细胞过程^[16]。最近,Matamoros 等^[17]发现定位在 ASFV 内膜、富含半胱氨酸多肽结构的 pE199L 蛋白,虽与病毒的结合、内吞、装配以及释放无关,但在病毒与宿主细胞的膜融合以及病毒进入细胞核的过程中起着重要作用。

2) ASFV 复制与转录。与 ASFV 的复制、修复和转录相关的蛋白大多是病毒自身合成的。参与 DNA 复制的 ASFV 蛋白有 pF778R、pF334L、pF1055L、pG1211R、CP530、pK196R、pA104R、PCNA 样蛋白、泛素结合酶等。参与 mRNA 转录的有 RNA 聚合酶类(pNP1450L、pEP1242L、pH359L、pD205R、pC147L 和 pD339L 等),mRNA 修饰酶(甲基转移酶 pEP424R、加帽酶 pNP868R 和多聚腺苷聚合酶 pC475L 等);转录因子 pG1340L、解旋酶 pD1133L 及含有解旋酶结构域的 pQ706L 和 pB962L 等也可能参与 ASFV 转录过程。ASFV 拥有一套由 DNA 连接酶 pNP419L、DNA X 型聚合酶、pO174L 和 II 类脱嘌呤/脱嘧啶核酸内切酶 pE296R 等组成的碱基修复系统,该系统可以纠正巨噬细胞激活的氧化反应对病毒基因组造成的破损,保证病毒基因组的完整性^[18]。ASFV 表达的复制高保真 dUTP 酶 pE165R 能够在低 dUTP 浓度下降低脱氧尿苷错配的概率,保证碱基配对的准确性^[19]。此外,拓扑异构酶 II 还能够应对双螺旋结构在 DNA 复制、转录和重组时遇到的拓扑问题。大量的研究表明 MGF360 基因对病毒(不一



注:图中虚线部分表示细胞膜

图 3 ASFV 感染过程

定是 ASFV) 在巨噬细胞中的复制是至关重要的, 但最近 Ramirez 等^[20]通过删除 ASFV-Georgia (ASFV-G) 的 MGF360-1L 构建的重组病毒 ASFV-G-ΔMGF360-1L, 经体外体内感染实验证明, MGF360-1L 对病毒毒力并不是必不可少的。同年, Ramirez 等^[21]又删除 ASFV-G 基因组中的 X69R 基因构建了 ASFV-G-ΔX69R 重组病毒, 体内外实验证明删除 X69R 基因对病毒复制没有显著影响。

3) ASFV 组装与释放。pp220 和 pp60 酶切产物以及 pS273R 构成的病毒核心层外包裹 p17、p54 和 p72 等内膜蛋白组装形成病毒粒子。成熟的病毒粒子依赖运动蛋白激酶和 ASFV 衣壳蛋白, 从病毒工厂运动到细胞膜, 通过出芽的方式离开宿主细胞。

2.2 ASFV 的免疫逃逸

ASFV 能够表达多种免疫调节蛋白, 抗衡宿主细胞的免疫系统和抗病毒机制, 抑制宿主蛋白合成, 诱导细胞凋亡, 为病毒的繁殖和扩散提供有利条件。

1) ASFV 调控宿主细胞转录和翻译。ASFV 能够通过调节宿主细胞转录和翻译达到抑制宿主的抗病毒免疫和促进自身蛋白表达的目的, 参与此过程的蛋白主要有 pA238L 和 pDP71L 等。pA238L 是 ASFV 早期表达蛋白, 包含与 IκB 类似的锚蛋白重复序列, 是病毒在巨噬细胞中复制的非必需蛋白; ASFV pA238L 能够抑制转录因子 NF-κB 与 NFAT 的活化和促炎因子与免疫调控因子的分泌, 还能下调 iNOS 启动子活性抑制抗病毒反应^[22]。pDP71L 是 ASFV 高度保守的晚期表达蛋白, 位于 ASFV 基因组的可变区; ASFV pDP71L 能够招募蛋白磷酸酶 1 (protein phosphatase 1, PP1), 促使真核翻译因子 2α (eukaryotic translation initiation factor 2α, eIF2α) 去磷酸化, 从而促使病毒利用宿主表达系统大量合成所需蛋白; 同时 eIF2α 去磷酸化还能抑制 pEIF2α-ATF4-CHOP 信号通路的激活, 抑制细胞凋亡, 这有利于病毒的大量增殖^[23]。

2) ASFV 调控宿主细胞信号通路。位于 ASFV 可变区的多基因家族主要包括 MGF100、MGF110、MGF300、MGF360 和 MGF505/530; 其中 MGF360 和 MGF505/530 能够抑制干扰素 (interferon, IFN) 和促炎因子的分泌, 促使病毒的免疫逃逸^[24]。MGF360 家族成员 pA276R 能够抑制干扰素调节因子 IRF3, 进而抑制 IFN-β 的产生; MGF505/530 家族成员

pA538R 能够同时抑制 IRF3 和 NF-κB, 从而抑制 IFN 的表达和 JAK-STAT 信号通路^[25]。另外, ASFV 编码的其他蛋白也能够通过抑制 IFN 产生免疫逃逸。pI329L 是 Toll 样受体 (toll-like receptors, TLRs) 家族同源蛋白, 是 ASFV 感染晚期表达的跨膜蛋白; ASFV pI329L 能够通过抑制 TLR 下游接头蛋白的活性, 阻断 IRF3、NF-κB 的活化和下游基因转录, 从而抑制 TLR3 介导的信号通路和 IFN 的产生^[25]。ASFV 中国株 pDP96R 也能抑制 IFN 的产生和 NF-κB 的活化^[26]。

3) ASFV 调控宿主细胞凋亡。ASFV 在感染初期能够抑制宿主细胞凋亡, 有利于病毒的大量增殖; 在感染后期促进宿主细胞凋亡, 有利于病毒的释放。ASFV 编码的抑制凋亡的蛋白有 pEP153R、pA224L、pA179L 和 pDP71L, 促进凋亡的蛋白主要有 p54。ASFV pEP153R 是与 C 型凝集素具有同源性的凝集素类蛋白, 在病毒感染早期和晚期均有表达; pEP153R 能够下调 MHC-I 的表达, 抑制细胞凋亡, 并参与病毒感染细胞和病毒与血细胞的吸附过程^[16]。pA224L 在 ASFV 感染晚期表达, 在不同毒株中同源率在九成以上; ASFV pA224L 能够通过抑制 TNF-α 诱导的 Caspase 3 的激活从而抑制细胞凋亡^[16]。pA179L 属于 Bcl-2 家族, 在 ASFV 感染早期和晚期均有表达; Bcl-2 家族蛋白能够调控细胞凋亡, 由抑制细胞凋亡的 Mcl-1、Bcl-2、Bcl-2、Bcl-XL 等和促进细胞凋亡的 Bad、Bak、Bax、Bid、bik 等组成; 在多种细胞系中均证明 ASFV pA179L 能够与家族其他成员相互作用, 抑制细胞凋亡^[16]; 此外, ASFV pA179L 能够调节细胞自噬, 抑制饥饿诱导的自噬^[27]。p54 是 ASFV 的结构蛋白, 通过表达 ASFV p54 能够诱导细胞凋亡。此外, ASFV 编码的 CD2v 具有抑制淋巴细胞增殖的功能^[28], ASFV L83L 能够通过 IL-1β 结合来破坏宿主先天免疫应答^[29]。

各国科学家仍在不断解析其他未知功能的蛋白。病毒蛋白 p285L 和 pK145R 的丰度高、但功能未知, 直到 2019 年被指出 p285L 是病毒 DNA 复制之前就表达的基因早期产物, pK145R 则表达于晚期; 预测膜蛋白 p285L 能够定位于纯化过的病毒颗粒内, 晚期蛋白 pK145R 虽在病毒粒子中检测不到, 但却能够在感染的细胞中不断积累, 至于它们是否与病毒复制相关仍有待研究^[30]。Ramirez 等^[31]在 2020 年利用酵母双杂交系统证明 ASFV 的 MGF360-16R

基因编码的转录晚期蛋白与 SERTAD3 和 SDCBP (参与核转录和宿主内病毒装运的宿主蛋白)之间存在相互作用,但敲除 MGF360-16R 构建的重组病毒 ASFV-G-MGF360-16R,无论在体内外均表现出和亲本 ASFV-G 相似的毒力,说明 MGF360-16R 基因与 ASFV-G 毒力无关。

3 ASFV 疫苗

早在上世纪就有 ASFV 的报道,但由于 ASFV 庞大的基因组及其复杂的免疫逃逸机制,至今没有研发出安全有效的疫苗。目前,ASF 相关疫苗主要包括灭活疫苗、减毒疫苗、亚单位疫苗、活载体疫苗和核酸疫苗等。

3.1 灭活疫苗

使用物理或化学的方法灭活变性 ASFV,使其失去感染能力的同时保留免疫原性而制成 ASF 灭活疫苗,这是一种传统的疫苗制备方法。但迄今为止,各种灭活方式制备的 ASFV 灭活苗均不能保护机体免受 ASFV 强毒株的攻击。Blome 等^[32]利用二元乙炔亚胺(diacetylenimine, DEI)灭活病毒悬液得到的灭活苗,配以佐剂 Polygen(TM)或 Emulsigen(R)-D,免疫后能诱导机体产生抗 ASFV 特异性抗体,但没有产生针对同源毒株的攻毒保护作用,可能是因为产生的抗体不能与 ASFV 发生中和反应。所以 ASFV 灭活疫苗还需要进一步研究。

3.2 弱毒疫苗

利用自然选择或人工的手段可筛选出毒力弱化的病毒株,从而制备成 ASF 弱毒疫苗。弱毒苗具有免疫原性良好,抗体持续周期较长等优点。目前,可将 ASF 弱毒苗分为天然弱毒苗和人工弱毒苗。

自然界中存在毒力较弱的毒株, NH/P68 和 OUR/T88/3 就是 2 株 ASFV 弱毒株。NH/P68 免疫后能够增强猪自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)和细胞毒性淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)的活性,保护机体免受 AFSV 强毒株 L60 的攻击^[33]。OUR/T88/3 免疫后,能够保护机体抵抗 OUR/T88/1 的攻击,但这种保护作用会随着 CD8⁺T 淋巴的衰竭而减退^[34];后又发现用 OUR/T88/3 首免, OUR/T88/1 加强免疫的免疫方式免疫后的猪对强毒株 Benin 97/1 和 Uganda 1965 的攻击具有保护作用,首次证明了诱导交叉免疫是可行的^[35]。但天然弱毒苗仍具

有传染性和致病性,免疫动物常会出现高热、关节肿胀等症状,还可能出现免疫力低的动物不耐受等^[33,35],这也是天然弱毒苗无法推广的原因。

研究发现 ASFV 能够在猪源细胞系 Vero、COS 及 MS 等多种细胞传代致弱。早在 20 世纪西班牙和葡萄牙学者就使用过传代致弱的疫苗,结果发现免疫后的动物出现了不同程度的 ASF 症状,大量动物死亡,存活下来的动物也携带大量的 ASFV,说明连续传代制备 ASFV 弱毒疫苗的方法还有待研究。

以上 2 种弱毒苗均存在安全性问题,不能用于 ASF 的防治,随着科学技术的不断发展,学者们利用分子生物学手段对病毒的结构、毒力基因组成进行修饰,从而降低其毒力。相较于天然弱毒苗和传代弱毒苗,重组弱毒苗更为安全,更加适合于大范围使用。O'Donnell 等^[36]利用基因工程手段敲除了 ASFV Georgia 2007 (ASFV-G)的 9GL(B119L)和 UK(DP96R)基因,制备了双基因敲除重组病毒 AFSV-G-Δ9GL/ΔUK;重组病毒经肌肉免疫猪后,结果显示接种重组病毒的猪不会产生 ASF 症状,并在接种后的 2 周内能够针对高毒力的 ASFV Georgia 2007 提供保护作用。Monteagudo 等^[37]发现免疫 CD2v(EP402R)基因缺失的 BA71 株的 AFSV,能够保护猪免受 BA71 攻击的同时抵御异源病毒的攻击,包括 Georgia 2007/1。这些疫苗虽然有效,但安全性仍需要继续增强。

2020 年, Gladue 等^[38]在缺失了 9GL 基因 ASFV (ASFV-G-Δ9GL)的基础上又删除了 2 个参与发病的基因(编码 CD2v 和 C 型凝集素样病毒基因),构建了 2 种新的重组减毒活疫苗,即 ASFV-G-Δ9GL/ΔCD2v 和 ASFV-G-Δ9GL/ΔCD2v/ΔEP153R,结果显示, ASFV-G-Δ9GL/ΔCD2v/ΔEP153R 能够显著降低 ASFV 的体外复制活性,但 2 种重组病毒并不能使家猪产生针对同源病毒株 ASFV-Georgia 的攻毒保护作用。同年, Borca 等^[39]将敲除了 1177L 基因的 ASFV-G 经肌肉注射后发现,重组病毒能够诱导强烈的病毒特异性抗体反应,感染猪发生了很低水平的病毒血症;同时, ASFV-G-Δ117L 能保护机体免受 ASFV-G 的攻击,且在低剂量时仍能为机体提供保护。

3.3 亚单位疫苗

亚单位疫苗是通过 ASFV 抗原蛋白诱导的特异性免疫反应保护机体免受病毒的攻击, ASFV 编码

的蛋白种类繁多,常以组合抗原进行免疫,但目前还未发现特效的保护性抗原或抗原组合。表达重组 ASFV p12 蛋白能够抑制 ASFV 与 Vero 的结合^[13], ASFV p32、p54、p72 抗体能够中和 ASFV,抑制病毒吸附及内化^[14]。Borca 等^[39]利用人胚胎肾细胞 293 (human embryonic kidney cell 293, HEK293)表达的 ASFV B646L(p72)、E183L(p54)和 O61R(p12)以及 MVA 载体表达的抗原 B646L、EP153R 和 EP402R (CD2v),免疫猪后发现,HEK293 制备的抗原蛋白能够刺激机体产生体液免疫反应,但细胞免疫应答较弱;而 MVA 载体抗原则能诱导细胞分泌 IFN- γ 。2020 年的一项研究表明,将猪的免疫球蛋白 IgG1 或 IgA1 Fc 片段与 ASFV 的 p30 或 p54 基因融合^[40],构建能够表达融合蛋白 p30-Fc γ 和 p54-Fc α 的重组酿酒酵母,重组酵母免疫后能够刺激家猪产生 p30/p54 特异性抗体和较高水平的黏膜免疫^[41]。

3.4 病毒活载体疫苗

大量研究表明,在 ASFV 的防治过程中,细胞免疫和体液免疫均扮演了重要角色^[42-43]。Lokhandwala 等^[42]构建的能够表达 ASFV p32、p54、pp62 和 p72 的重组腺病毒表达载体免疫后,能够诱导机体产生的高水平的特异性体液、细胞免疫应答以及细胞毒性 T 淋巴细胞反应;后又构建了表达 A151R、B119L、B602L、EP402R Δ PRR、B438L、K205R 和 A104R 的重组腺病毒表达系统,并与佐剂混合免疫猪后发现,机体分泌了高水平的抗 ASFV 特异性 IgG 以及 IFN- γ ^[43]。虽病毒活载体 ASFV 疫苗能够同时诱导机体产生体液和细胞免疫应答,但仍需大量实验证明疫苗的安全性和有效性。

3.5 核酸疫苗

核酸疫苗是选择 AFSV 保护性抗原基因,与表达载体连接构建能够表达 ASFV 抗原基因的重组表达质粒。Lacasta 等^[44]构建了包含 4 029 个克隆,大小约 130 kb 的 ASFV DNA 文库,覆盖了 76% 的 Ba71V 株基因,用该文库免疫猪后发现,约 6 成的猪能够抵御 ASFV 强毒株 E75 的攻击,在存活猪中能够检测到 CD8⁺T 含量升高。核酸疫苗存在的问题也是无法提供对 ASFV 全面的保护,所以寻找保护效果好的抗原或抗原组合仍是 ASF 防治的关键。

4 结 语

近年来,随着对 ASFV 编码蛋白结构和功能研

究的不断深入,ASFV 的结构和感染过程逐渐清晰。但由于 ASFV 基因组数量巨大,免疫逃逸机制复杂,病毒致病机理仍不清楚。目前,还没有能够直接消灭 ASFV 的特效药,所以除了加强动物饲养环境的消毒外,疫苗是阻断病毒传播的重要防治手段。目前,ASF 灭活苗保护效果差,弱毒苗存在毒力返强和扩大病毒传播等安全问题;所以亚单位疫苗、病毒活载体疫苗、核酸疫苗在 ASF 防治过程中具有巨大的应用潜力,但现仍未开发出一款兼具安全和免疫效果好的疫苗。主要存在的问题就是 ASFV 中具有良好免疫原性的保护性抗原或抗原组合仍未找到,所以还需进一步研究 ASFV 的基因组,明确其编码蛋白,理清其感染过程及传播机制,以期为 ASF 的防治提供理论依据。

参 考 文 献

- [1] CARRASCOSA J L, CARAZO J M, CARRASCOSA A L, et al. General morphology and capsid fine structure of African swine fever virus particles[J]. *Virology*, 1984, 132(1): 160-172.
- [2] ANDRES G, SIMON-MATEO C AND VINUELA E. Assembly of African swine fever virus: Role of polyprotein pp220[J]. *Journal of virology*, 1997, 71(3): 2331-2341.
- [3] RODRIGUEZ J M, GARCIA-ESCUADERO R, SALAS M L, et al. African swine fever virus structural protein p54 is essential for the recruitment of envelope precursors to assembly sites[J]. *Journal of virology*, 2004, 78(8): 4299-4313.
- [4] SUAREZ C, GUTIERREZ-BERZAL J, ANDRES G, et al. African swine fever virus protein p17 is essential for the progression of viral membrane precursors toward icosahedral intermediates[J]. *Journal of virology*, 2010, 84(15): 7484-7499.
- [5] RODRÍGUEZ I, NOGAL M L, REDREJO-RODRÍGUEZ M, et al. The African swine fever virus virion membrane protein pE248R is required for virus infectivity and an early postentry event[J]. *Journal of virology*, 2009, 83(23): 12290-12300.
- [6] GARCIA-ESCUADERO R, ANDRES G, ALMAZAN F, et al. Inducible gene expression from African swine fever virus recombinants: Analysis of the major capsid protein p72 [J]. *Journal of virology*, 1998, 72(4): 3185-3195.
- [7] BROOKES S M, DIXON L K, PARKHOUSE R M E. Assembly of African swine fever virus: Quantitative ultra-

- structural analysis *in vitro* and *in vivo*[J]. *Virology*, 1996, 224(1):84-92.
- [8] CARRASCOSA A L, SASTRE I, GONZALEZ P, et al. Localization of the African swine fever virus attachment protein p12 in the virus particle by immunoelectron microscopy[J]. *Virology*, 1993, 193(1):460-465.
- [9] DIXON L K, ALONSO C, ESCRIBANO J M, et al. *Virus taxonomy: Ninth report of the international committee on taxonomy of viruses*[M]. Salt Lake City: Academic Press, 2011.
- [10] SANZ A, GARCÍA-BARRENO B, NOGAL M L, et al. Monoclonal antibodies specific for African swine fever virus proteins[J]. *Journal of virology*, 1985, 54(1):199-206.
- [11] RODRÍGUEZ J M AND SALAS M L. African swine fever virus transcription[J]. *Virus research*, 2013, 173(1):15-28.
- [12] ALEJO A, MATAMOROS T, GUERRA M, et al. A proteomic atlas of the African swine fever virus particle[J]. *Journal of virology*, 2018(92):10-18.
- [13] SÁNCHEZ E G, PÉREZ-NÚÑEZ D, REVILLA Y. Mechanisms of entry and endosomal pathway of African swine fever virus[J]. *Vaccines*(Basel), 2017, 5(4):42.
- [14] GOMEZ-PUERTAS P, RODRIGUEZ F, OVIEDO J M, et al. Neutralizing antibodies to different proteins of African swine fever virus inhibit both virus attachment and internalization[J]. *Journal of virology*, 1996, 70(8):5689-5694.
- [15] GOATLEY L C, DIXON L K. Processing and localization of the African swine fever virus CD2v transmembrane protein[J]. *Journal of virology*, 2011, 85(7):3294-3305.
- [16] DIXON L K, SÁNCHEZ-CORDÓN P, GALINDO I, et al. Investigations of pro- and anti-apoptotic factors affecting african swine fever virus replication and pathogenesis[J]. *Viruses*, 2017, 9(9):241.
- [17] MATAMOROS T, ALEJO A, RODRÍGUEZ J M, et al. African swine fever virus protein pE199L mediates virus entry by enabling membrane fusion and core penetration[J]. *Mbio*, 2020, 11(4):undefined.
- [18] REDREJO-RODRÍGUEZ M, SALAS M L. Repair of base damage and genome maintenance in the nucleo-cytoplasmic large DNA viruses[J]. *Virus research*, 2014, 179:12-25.
- [19] OLIVEROS M, GARCIA E R, ALIALEJO A, et al. African swine fever virus dUTPase is a highly specific enzyme required for efficient replication in swine macrophages[J]. *Virology*, 1999(73):8934-8943.
- [20] RAMIREZ-MEDINA E, VUONO E A, RAI A, et al. Evaluation in swine of a recombinant African swine fever virus lacking the MGF-360-1L Gene[J]. *Viruses*, 2020(12):undefined.
- [21] RAMIREZ-MEDINA E, VUONO E, PRUITT S, et al. X69R is a non-essential gene that, when deleted from African swine fever, does not affect virulence in swine[J]. *Viruses*, 2020(12):undefined.
- [22] SÁNCHEZ E G, QUINTAS A, NOGAL M, et al. African swine fever virus controls the host transcription and cellular machinery of protein synthesis. [J]. *Virus research*, 2013(173):58-75.
- [23] ZHANG F, MOON A, CHILDS K, et al. 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[J]. *Journal of virology*, 2010(84):10681-10689.
- [24] REIS A L, ABRAMS C C, GOATLEY L C, et al. 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[J]. *Vaccine*, 2016, 34(39):4698-4705.
- [25] CORREIA S, VENTURA S, PARKHOUSE R M. Identification and utility of innate immune system evasion mechanisms of ASFV[J]. *Virus research*, 2013, 173(1):87-100.
- [26] WANG X, WU J, WU Y, et al. Inhibition of cGAS-STING-TBK1 signaling pathway by DP96R of ASFV China 2018/1[J]. *Biochemical and biophysical research communications*, 2018, 506(3):437-443.
- [27] HERNAEZ B, CABEZAS M, MUNOZ-MORENO R, et al. A179L, a new viral Bcl2 homolog targeting Beclin 1 autophagy related protein[J]. *Current molecular medicine*, 2013, 13(2):305-316.
- [28] KEBLER C, FORTH J H, KEIL G M, et al. The intracellular proteome of African swine fever virus[J]. *Scientific reports*, 2018, 8(1):14714.
- [29] BORCA M V, O'DONNELL V, HOLINKA LG, et al. The L83L ORF of African swine fever virus strain Georgia encodes for a non-essential gene that interacts with the host protein IL-1β[J]. *Virus research*, 2018(3):17.
- [30] HÜBNER A, KEBLER C, PANNHORST K, et al. Identification and characterization of the 285L and K145R proteins of African swine fever virus[J]. *Journal of general virology*, 2019(100):1303-1314.

- [31] RAMÍREZ-MEDINA E, VUONO E A, VELAZQUEZ-SALINAS L, et al. The MGF360-16R ORF of African swine fever virus strain Georgia encodes for a nonessential gene that interacts with host proteins SERTAD3 and SDCBP[J]. *Viruses*, 2020(12): undefined.
- [32] BLOME S, GABRIEL C, BEER M. Modern adjuvants do not enhance the efficacy of an inactivated African swine fever virus vaccine preparation[J]. *Vaccine*, 2014, 2(31): 3879-3882.
- [33] LEITÃO A, CARTAXEIRO C, COELHO R, et al. The nonhaemadsorbing African swine fever virus isolate ASFV/NH/P68 provides a model for defining the protective anti-virus immune response[J]. *Journal of general virology*, 2001, 82(3): 513-523.
- [34] OURA C A L, DENYER M S, TAKAMATSU H, et al. In vivo depletion of CD8⁺ T lymphocytes abrogates protective immunity to African swine fever virus[J]. *Journal of general virology*, 2005(86): 2445-2450.
- [35] KING K, CHAPMAN D, ARGILAGUET J M, et al. Protection of European domestic pigs from virulent African isolates of African swine fever virus by experimental immunisation[J]. *Vaccine*, 2011, 29(28): 4593-4600.
- [36] O'DONNELL V, RISATTI G R, HOLINKA L G, et al. 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[J]. *Journal of virology*, 2017(91): 16.
- [37] MONTEAGUDO P L, LACASTA A, LÓPEZ E, et al. BA71ΔCD2: A new recombinant live attenuated African swine fever virus with cross-protective capabilities[J]. *Journal of virology*, 2017, 91(21): 17.
- [38] GLADUE D P, O'DONNELL V, RAMIREZ-MEDINA E, et al. 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[J]. *Viruses*, 2020(12): undefined.
- [39] BORCA M V, RAMIREZ-MEDINA E, SILVA EDIANE, et al. 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[J]. *Journal of virology*, 2020(94): undefined.
- [40] LOPERA-MADRID J, OSORIO J E, HE Y, et al. Safety and immunogenicity of mammalian cell derived and modified vaccinia Ankara vectored African swine fever subunit antigens in swine[J]. *Veterinary immunology and immunopathology*, 2017(185): 20-33.
- [41] CHEN C, HUA D, SHI J, et al. Porcine immunoglobulin Fc fused P30/P54 protein of African swine fever virus displaying on surface of *S. cerevisiae* elicit strong antibody production in swine[J]. *Virologica sinica*, 2020 (20): 278-280.
- [42] LOKHANDWALA S, WAGHELA S D, BRAY J, et al. Induction of robust immune responses in swine using a cocktail of adenovirus vectored African swine fever virus antigens[J]. *Clinical & vaccine immunology*, 2016, 23(11): 888-900.
- [43] LOKHANDWALA S, WAGHELA S D, BRAY J, SANGWAR N, et al. Adenovirus-vectored novel African swine fever virus antigens elicit robust immune responses in swine [J/OL]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0177007.
- [44] LACASTA A, BALLESTER M, MONTEAGUDO P L, et al. Expression library immunization can confer protection against lethal challenge with African swine fever virus[J]. *Journal of virology*, 2014, 88(22): 13322-13332.

【责任编辑:刘少雷】