

罗梦, 郭子强, 李佳乐, 等. 非洲猪瘟病毒蛋白的结构和功能研究进展 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (3): 125-134.

LUO M, GUO Z Q, LI J L, et al. Advances in research on the structure and functions of African swine fever virus proteins [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (3): 125-134.

非洲猪瘟病毒蛋白的结构和功能研究进展

罗梦^{1,2}, 郭子强¹, 李佳乐¹, 帅文娜¹, 李丽薇^{1,3}, 周艳君^{1,3}, 姜一峰^{1,3},
童武^{1,3}, 童光志^{1,3}, 韦祖樟^{2*}, 高飞^{1,3,4*}

(1. 中国农业科学院上海兽医研究所, 上海 200241;

2. 广西大学动物科学技术学院, 广西 南宁 530004;

3. 扬州大学/江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 江苏 扬州 225009;

4. 上海市兽医生物技术重点实验室, 上海 200240)

摘要: 非洲猪瘟 (African swine fever, ASF) 是一种在家猪和野猪之间传播的高度传染性和致死性的病毒性疾病, 该病的病原体是非洲猪瘟病毒 (African swine fever virus, ASFV), 致死率高达 100%。近年来, ASF 疫情严重威胁着我国生猪产业的健康发展。与之前相比, 我国的 ASFV 流行毒株逐渐由 ASFV II 型强毒株转变为 ASFV II 型和 I 型的重组毒株。因此, 迫切需要开发具有交叉保护效力的有效疫苗来预防 ASFV 的感染。ASFV 的结构复杂, 其基因组是一种大型双链 DNA 分子, 大小在 170~193 kb, 包含 150~167 个开放阅读框, 编码近 200 种蛋白。这些蛋白具有复杂的结构、功能以及免疫逃逸机制, 使 ASF 疫苗研发困难重重。截止目前, 尚未有针对 ASF 的有效疫苗或治疗药物问世, 仍需要全面解析非洲猪瘟病毒蛋白的结构和功能, 深入了解病毒感染机制以及病毒蛋白和宿主蛋白的相互作用。本文旨在综述当前关于 ASFV 相关蛋白的结构和功能的研究进展, 以期有效预防和控制 ASF 提供科学依据。

关键词: 非洲猪瘟病毒; 结构蛋白; 非结构蛋白; 免疫逃避

中图分类号: S855 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2025)03-0125-010

Advances in research on the structure and functions of African swine fever virus proteins

LUO Meng^{1,2}, GUO Ziqiang¹, LI Jiale¹, SHUAI Wenna¹, LI Liwei^{1,3}, ZHOU Yanjun^{1,3}, JIANG Yifeng^{1,3},
TONG Wu^{1,3}, TONG Guangzhi^{1,3}, WEI Zuzhang^{2*}, GAO Fei^{1,3,4*}

(1. Shanghai Veterinary Research Institute, CAAS, Shanghai 200241, China;

2. College of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530004, China;

3. Yangzhou University/Jiangsu Co-innovation Center for the Prevention and Control of Important Animal Infectious Disease and Zoonosis, Yangzhou 225009, China;

4. Shanghai Key Laboratory of Veterinary Biotechnology, Shanghai 200240, China)

Abstract: African swine fever (ASF) is a highly contagious and fatal viral disease spreading between domestic pigs and wild boars. The pathogen of this disease is African swine fever virus (ASFV) with a mortality rate as high as 100%. In recent years, the healthy development of China's pig industry has been seriously threatened by the epidemic of ASF. Compared with previous situation, the epidemic strains of ASFV in China have gradually changed from strong strains of ASFV II to recombinant strains of ASFV II and I. Therefore, there is an urgent need for developing effective vaccines with cross-protective efficacy to prevent ASFV infection. The structure of ASFV is complex, and its genome is a large double-stranded DNA molecule, approximately 170-193 kb in size, including 150-167 open reading frames, encoding

收稿日期: 2024-04-25; 修回日期: 2025-01-10

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFD1800800, 2021YFD1801401); 上海市自然科学基金项目 (21ZR1476900); 国家自然科学基金项目 (32373050, 32072861); 中国农业科学院科技创新工程项目 (CAAS-CSLPDCP-202402); 上海市兽医生物技术重点实验室开放基金项目 (BD1500010)

第一作者: 罗梦, 女, 硕士研究生

* 通信作者: 韦祖樟, 教授, 主要研究方向为预防兽医学, E-mail: zuzhangwei@gxu.edu.cn; 高飞, 研究员, 主要研究方向为预防兽医学, E-mail: feigao@shvri.ac.cn。

nearly 200 proteins. The structure, function and immune escape mechanism of these proteins are complicated, which makes it difficult to develop ASF vaccine. And up to now, no effective vaccines against or therapeutic drugs for ASF have been available. Therefore, it is necessary to comprehensively analyze the structure and function of ASFV protein, and deeply understand the mechanism of viral infection and the interaction between the viral protein and the host protein. This analysis is essential for screening antigen targets with good protection and designing targeted and effective ASF vaccine strategies. In this review, the progress in current research on the structure and function of ASFV-related proteins was summarized, in order to provide scientific basis for the effective prevention and control of ASF.

Keywords: African swine fever virus; structural protein; non-structural protein; immune evasion

非洲猪瘟病毒 (African swine fever virus, ASFV) 属于非洲猪瘟病毒科、非洲猪瘟病毒属, 是其唯一已知的成员, 也是目前唯一已知的双链 DNA 虫媒病毒^[1]。它具有高度传染性、急性致死性和出血性病毒感染等特点, 可导致野猪和家猪的死亡率高达 100%。非洲猪瘟 (African swine fever, ASF) 首次在 1921 年于肯尼亚被报道。在过去的一百多年里, 该疾病持续不断地影响着非洲、东欧和亚洲等地区, 造成了严重的影响^[2-4]。2018 年, ASF 首次入侵中国, 8 月份在辽宁省沈阳市报告了非洲猪瘟病例, 随后, 中国多个省份相继暴发 ASF, 给生猪产业带来了沉重打击^[5]。全球范围内的 ASF 暴发严重影响了全球生猪产业的发展, 使得养猪业的经济遭受了重创。由于缺乏有效的疫苗或治疗方法来对 ASF 进行预防和控制, 大规模的病猪扑杀成为遏制疫情的最有效手段, 但从生物安全角度来看, 这种方法并不理想。尽管科学家们已经鉴定出许多 ASFV 蛋白, 但关于这些蛋白的详细结构和具体功能仍需要进一步的研究。特别是, 理解这些蛋白如何与宿主细胞相互作用以及它们在病毒生命周期中的具体“角色”, 将有助于研发设计出安全有效的免疫制剂和治疗方法, 从而控制或预防 ASF 的发生和传播。本文将综述性地介绍 ASFV 相关蛋白的结构和功能的信息。

1 参与 ASFV 组装的蛋白

ASFV 是一种复杂的二十面体形态的线性双链 DNA 病毒。囊膜蛋白、衣壳蛋白、核壳蛋白、类核蛋白等结构蛋白和其他非结构蛋白参与了 ASFV 病毒粒子的组装^[6]。ASFV 的这一特殊结构使其区别于其他核质大 DNA 病毒 (NCLDV)。

1.1 囊膜蛋白

ASFV 的囊膜包括外囊膜和内囊膜。外囊膜是 ASFV 的最外层的结构, 在病毒通过细胞质膜出芽的过程中获得, 这一层结构不仅保护了病毒, 还可能参与了病毒对宿主细胞的附着和内吞过程^[2]。在外囊膜上, 已经识别出一种特征性的病毒蛋白—CD2v (pEP402R, 由病毒基因 EP402R 编码)。该蛋白由信号肽、跨膜区和两个免疫球蛋白样结构域构成, 并且

其 C 端胞内结构域包含可变数量的富含脯氨酸的重复序列。这些结构特点使得 CD2v 能够与肌动蛋白以及 SH3P7 接头蛋白相互作用, 在蛋白转运和信号转导等过程中起促进作用^[7]。此外, CD2v 蛋白还能与另一种接头蛋白 AP-1 结合, 这一机制有助于病毒在被感染细胞内的复制。值得注意的是, 由于猪红细胞表面存在 CD2 配体, CD2v 作为主要的包膜蛋白, 能够促进红细胞的吸附, 进而帮助病毒在宿主细胞的扩散和增殖^[8]。因此, CD2v 作为一种重要的免疫原, 是 ASFV 亚单位疫苗设计的关键研究对象之一。内囊膜包裹着核壳和类核, 具有脂质双层膜结构, 来源于内质网^[9]。研究指出在病毒内囊膜中存在 p12 (pO61R)、p17 (pD117L)、p22 (pKP117R)、p30 (pCP204L)、p49 (pB438L)、p54 (pE183L)、pE248R、pE199L、pH108R、pEP84R 等结构蛋白^[9-10]。p54 被认为是参与内膜形成的关键蛋白, 可以参与内质网募集及其转化为病毒膜前体, 还与 p17 协同作用, 帮助组装病毒衣壳层^[9]。

1.2 衣壳蛋白

ASFV 的衣壳结构紧贴其外囊膜, 并具有大约 250 nm 的最大直径, 呈现出二十面体的形态。这种结构为病毒提供了保护, 使其免受核酸酶和其他物理化学因素的破坏。衣壳由一个主要衣壳蛋白 p72 (pB646L) 构成, 它占据了病毒蛋白总质量的约三分之一, 除此之外, 还有 4 个次要衣壳蛋白: pH240R、pM1249L、p17 (pD117L) 和 p49 (pB438L)^[11]。另外, p14.5 (pE120R) 也是一种与 p72 蛋白相连的衣壳组分, 它在病毒从组装部位到质膜的转运过程中发挥至关重要的作用^[12], 这些衣壳蛋白的集体作用确保了 ASFV 的稳定和有效传播。

ASFV 衣壳由伪六聚体帽体和五聚体帽体组成, 形成三对称体和五对称体。每个伪六聚体帽体由 3 个 p72 分子组成, 每个五聚体帽体由 5 个 H240R 基因编码蛋白组成, 也被称为五子蛋白, 呈现单个果冻卷和球状帽^[11,13]。然而, H240R 基因编码蛋白不参与病毒吸附和进入宿主细胞的过程^[11]。作为构成外壳框架的骨架蛋白, M1249L 编码蛋白能够固定一个五对称体并连接两个相邻的五对称体, 在衣壳组装过程中

连接五子核心, 辅助完成组装^[7,11]。p17 蛋白, 严格意义上来说位于病毒内膜, 是连接衣壳和脂质内膜的主要结构跨膜蛋白^[14]。p17 是衣壳组装和二十面体形态构建的必需且高丰度的蛋白, 可以将 p72 牢固锚定到内膜, 同时也可与 pM1249L 骨架蛋白和 p72 帽体广泛相互作用, 形成刚性拉链结构, 有助于衣壳形成^[11]。p49 蛋白, 由基因 *B438L* 编码, 是一种在病毒感染后期表达的蛋白。p49 蛋白位于衣壳顶点附近, 是形成病毒颗粒衣壳二十面体顶点所必需的蛋白。在 ASFV 感染过程中, p49 可以与细胞膜结合形成完整的膜蛋白。因此, 在抑制膜蛋白 p49 的表达时, 会形成异常的管状结构, 使病毒颗粒无法呈现正常的二十面体结构^[10]。

“头对背”、“头对头”和“背对背”这 3 种组装模式不足以支撑 p72 帽体形成高阶的完整的衣壳结构, 所以 pH240R、pM1249L、p17 和 p49 蛋白在触发衣壳组装的过程中至关重要, 这 4 种次要衣壳蛋白在衣壳外壳的正下方形成一个复杂的网络, 稳定了整个衣壳结构^[11]。病毒的主要衣壳蛋白 p72 具有良好的保守性和免疫原性, 在感染后可诱导抗体反应, 被广泛用作 ASFV 感染的关键抗体检测靶标^[15]。深入了解 p72 有助于未来 ASFV 疫苗的研发。

1.3 核壳蛋白

ASFV 的核壳是位于病毒内膜和类核之间的基质样结构域, 是直径为 180 nm 的厚蛋白质层, 主要由 pp220 (pCP2457L) 和 pp62 (pCP530R) 多聚蛋白前体组成^[16]。两种多聚蛋白在共有序列 Gly-Gly-Xaa 处被特异性 SUMO-1 半胱氨酸蛋白酶 pS273R 水解切割后形成成熟的病毒蛋白, pS273R 结构主要由“核心结构域”和“臂结构域”组成, 其中“臂结构域”包含 M1 到 N83 残基, 是 ASFV 独有的; “核心结构域”包含 N84 到 A273 残基, 与衣原体的去泛素活化酶具有高度的结构相似性, 提示存在潜在的功能^[13]。蛋白酶 pS273R 水解加工 pp220 和 pp62 多蛋白的过程对于非洲猪瘟病毒颗粒的成熟和传染性至关重要, pS273R 蛋白酶为靶向 ASFV 有效抑制剂的设计和开发提供了研究思路。

pp220 多聚蛋白是一种 N-肉豆蔻酰化前体多肽, 它作为一种膜锚定信号, 有助于将发育中的核壳锚定于病毒的内膜上。这一过程对于核壳的正确组装至关重要, 可直接或间接参与将其他主要核心成分(包括病毒 DNA) 整合到病毒颗粒中^[13,17]。pp220 经过水解加工, 产生 p5、p34、p14、p37 和 p150 这 5 种主要的核壳结构蛋白。在这些蛋白中, p150 的蛋白质量仅次于衣壳蛋白 p72, 是构成核壳的主要蛋白; 另一方面, pp62 多聚蛋白在病毒复制的后期表达,

其通过蛋白水解产生的产物包括 p15、p35 和 p8 这 3 种成熟的病毒蛋白^[16]。

在 ASFV 病毒粒子的组装过程中, 核壳多蛋白加工与病毒的组装是同时进行的。当阻断主要的衣壳蛋白 p72 的表达时, 未经过加工的 pp220 和 pp62 会形成异常的拉链状元件, 这表明 p72 蛋白的表达是 pp220 和 pp62 加工所必需的^[16]。而 pp62 的蛋白水解加工依赖于 pp220 的表达, 因此这两种多聚蛋白前体之间的相互作用有利于病毒核壳结构的形成, 当 pp220 和 pp62 的蛋白表达受抑制时, 组装出的二十面体病毒颗粒会出现核壳和类核的缺失^[17]。近期的研究证实, 之前未被表征的结构蛋白 pEP84R 实际上是一种内囊膜跨膜蛋白, 它可以将核衣壳蛋白 pp220 靶向病毒的内膜, 引导核壳的组装, 从而促进类核的形成^[18]。

1.4 类核蛋白

ASFV 的类核位于病毒粒子的最内层, 其中包含有病毒的基因组 DNA 以及一些核蛋白。类核被脂质包膜和二十面体衣壳包裹。该病毒的 DNA 大小在为 170~194 kb, 编码在 150~170 个开放阅读框^[17,19]。ASFV 的基因组具有共价交联的发夹环末端, 其结构由包含串联重复序列和多基因家族的可变区域组成, 在成熟病毒粒子的类核中可以检测到两种主要的 DNA 结合蛋白, 即 p10 (pK78R) 和 pA104R。研究报道指出, pA104R 对双链 DNA 具有很高的亲和力, 因此类核基因组的组装可能需要 pA104R 的参与^[7,13]。

1.5 其他参与组装的蛋白

一些非结构蛋白和其他组分通过与结构蛋白的相互作用以促进完整病毒粒子的形成, 它们的重要性不亚于结构蛋白。例如, pB119L (9GL) 和 pB602L 等非结构蛋白在 ASFV 的生命周期中发挥着关键作用。

pB119L 是一个在病毒感染的晚期阶段大量表达的非结构蛋白, 属于巯基氧化酶的 Erv1p/Alrp 家族, 该蛋白通过诱导二硫键形成二聚体在病毒正确组装过程中发挥作用^[20]。研究发现, 通过敲除 ASFV 9GL 基因所开发的 ASFV 候选疫苗能够减弱强毒株的毒力, 并在亲本毒株的攻击下展现出高效的保护效果。然而, 不同毒株之间的效果存在差异; 例如 Georgia2010 分离株中缺失 9GL 基因的疫苗在高剂量接种时仍保留有残余的毒性^[21]。

另一个非结构蛋白 pB602L 同样也是 ASFV 感染晚期表达的, 它作为主要衣壳蛋白 p72 的分子伴侣之一, 在病毒衣壳的组装中发挥着至关重要的作用^[13]。当 pB602L 蛋白缺失时, 病毒粒子形态会产生异常“拉链状”结构而非正常的二十面体结构, 这表明

pB602L 是确保 p72 蛋白正确折叠的关键因子, 此外, 当 pB602L 或 p17 蛋白的表达受到抑制时, 会影响到 pp220 和 pp60 蛋白的水解过程, 进而降低 p72 蛋白的表达水平, 并最终产生核芯缺陷的病毒颗粒^[22]。目前关于 pB602L 蛋白和 p72 蛋白之间的相互作用机制尚不清楚。作为一种良好的免疫原, pB602L 蛋白能够诱导机体产生强烈的免疫反应^[23]。因此, 对 pB602L 的结构和功能进行更深入的研究是十分必要的。

2 参与 ASFV 入侵的蛋白

研究表明, ASFV 入侵天然宿主细胞的主要途径主要有两种: 一种是依赖于网格蛋白和胆固醇介导的内吞作用, 另一种是巨胞饮作用。这两种吸附途径在动力蛋白的参与下相互配合, 使病毒能够顺利进入细胞^[24]。因此, 深入了解病毒如何进入细胞以及相关的结构蛋白对于抑制 ASFV 感染和开发潜在疫苗具有关键意义。参与 ASFV 附着易感宿主细胞的结构蛋白包括 p54、pE248R、pE199L、p72、CD2v、p12 和 p30 等。这些蛋白在病毒与宿主细胞的相互作用中发挥着重要作用, 对病毒的侵入和复制过程至关重要。

p54 蛋白是 ASFV 的早期膜结构蛋白, 具有一个 N 端的跨膜结构域, 主要定位于内质网衍生的内膜前体。p54 蛋白能够通过与微管运动复合体中的动力蛋白轻链 8 (DLC8) 亚基结合, 在细胞内部运输病毒粒子^[25]。此外, p54 能够形成通过二硫键连接的同源二聚体, 这在感染过程中可能导致内质网层的塌陷, 从而在病毒吸附和侵入宿主细胞的过程中起到关键作用。由于 p54 在 ASFV 感染过程中的重要性, 它被视为检测 ASF 的良好血清学标志物。然而, 由于病毒结构的复杂性, 研究 p54 的相关作用机制面临一定的挑战。因此, 对 p54 的结构和功能进行更深入的分析, 可能对于理解和阻断 ASFV 的早期感染过程具有重要意义。与 p54 蛋白类似, 位于衣壳表面的 p72 蛋白能够中和抗体并阻断病毒颗粒对巨噬细胞的特异性结合^[26]。

pE248R 蛋白是 ASFV 的晚期结构蛋白, 它具有分子内二硫键, 其氨基酸序列包含一个假定的肉豆蔻酰化位点和一个靠近羧基末端附近的疏水跨膜区域^[26]。ASFV 和牛痘病毒 (VACV) 同属于 NCLDV 家族。在病毒内膜上的 pE248R 和 pE199L 蛋白, 在序列和结构上与 VACV 的吸附融合复合物的组成部分有相似之处, 因此被认为对内膜与限制性内体膜的融合过程以及核壳的释放至关重要^[9,13]。其中, pE248R 在病毒侵入过程中被肉豆蔻酰化, 与感染细胞的膜部分结合, 从而促进 ASFV 感染过程。研究显

示, pE248R 蛋白缺陷的病毒颗粒的感染能力至少降低了 100 倍^[27]。

p12 蛋白是 ASFV 的晚期膜结构蛋白, 由 ASFV O61R 基因编码, 其 C 末端区域富含半胱氨酸结构域。p12 蛋白参与细胞受体的识别, 能够介导病毒颗粒吸附到易感细胞上^[9], 但其确切的附着机制还需要深入的研究。p30 蛋白由 ASFV CP204L 基因编码, 是主要的内膜结构蛋白和免疫原性蛋白, 在病毒内吞作用中的重要性是显著的^[13]。p30 蛋白是 ASFV 感染的早期表达最丰富的病毒蛋白, 且表现出长期表达的特性, 因此被确定为理想的感染标志物。及时监测 ASFV p30 蛋白可以检测非洲猪瘟的感染情况并评估疾病进程^[28]。据报道, p30 蛋白具有良好的抗原性, 具有可识别的磷酸化、糖基化和膜附着位点。此外, p30 蛋白的 C 端比 N 端更加活跃, 且具有独特的 RNA 酶 (RNase) 活性^[29]。因此, 推测该病毒蛋白可以选择性下调宿主 RNA, 具有抵消宿主免疫反应的功能。

3 参与 ASFV 复制和转录的蛋白

ASFV 在感染宿主细胞后, 约 6~8 h 开始其复制过程。这个过程主要发生在细胞质的病毒工厂 (VF) 中。病毒转录活动则在感染后 8~16 h 开始启动^[9]。

3.1 参与病毒复制和转录的核壳蛋白

p14、p37 和 p15 蛋白是 ASFV 的核壳蛋白, 参与病毒基因组的复制或转录。p14 和 p37 蛋白是由 pp220 蛋白前体经过 pS273R 蛋白酶的水解加工而生成的两种成熟蛋白。在病毒复制周期中, p37 和 p14 蛋白扮演了关键角色, 它们具备核质穿梭活性, 参与病毒基因组从细胞质到细胞核的转运过程^[30]; 同时, 这两种蛋白还可能参与到病毒 DNA 复合物的形成过程中, 有助于促进核输入并启动病毒 DNA 的复制^[13]。其中, p37 蛋白在核质病毒 DNA 转运过程中表现出高效率, 而且这个过程不受核输出接头蛋白染色体维持蛋白 1 (CRM-1) 依赖性途径影响; 即使 CRM-1 途径受到抑制, p37 蛋白仍然能够在细胞核和细胞质之间有效进行病毒 DNA 的转运^[26]。与之不同的是, p14 蛋白主要负责向细胞核内输入物质, 而不涉及将物质输出到细胞质的过程。p15 蛋白是 pp62 蛋白前体的成熟产物之一, 通过水解加工产生。它具有二硫键连接的三聚体结构^[31]。研究表明, p15 能够与 ssDNA 和 dsDNA 结合, 对 ssDNA 的亲合力更强, 这暗示了 p15 可能在病毒转录和基因组复制过程中发挥作用, 同时, p15 与 dsDNA 的结合可能涉及病毒基因组的包装^[13,31]。

3.2 参与病毒复制和转录的类核蛋白

p10 和 pA104R 蛋白是两种位于类核的 DNA 结合蛋白,在病毒基因组的复制或转录过程中发挥重要作用。p10 蛋白由 ASFV K78R 基因编码,具有功能性核定位信号(NLS)。研究表明 p10 具有向细胞核外输出物质的能力,并且在 ASFV 感染的晚期可能在细胞核中大量积累,因此,推测 p10 在感染的晚期可能在细胞核中起到关键的复制作用^[32]。最近的研究显示, p10 蛋白在其 C 端区域富含赖氨酸残基,并含有特征性的螺旋-转螺旋基序;其 N 端则富含丝氨酸残基的螺旋结构,这些结构对于 dsDNA 的结合效率至关重要^[33]。此外,研究还发现 ASFV 感染猪后产生的抗体可识别 p10 蛋白,这意味着 p10 可能是研发新型疫苗的潜在靶点^[33]。组蛋白样蛋白 pA104R 在 ASFV 感染的后期表达,它参与调节病毒 DNA 的拓扑结构和基因组组装,是 ASFV 基因组包装、复制和转录的关键蛋白之一^[20,34]。研究证实, pA104R 在 ASFV 的进化过程中高度保守,尽管它不是一个必需基因,从 ASFV 的基因组中删除 A104R 基因不会显著影响病毒的复制能力,但是这一特性可能被用来提高减毒毒株的安全性^[34]。此外, pA104R 被认为能够结合 dsDNA 和 ssDNA,且与 dsDNA 有更高的亲和力,但是二苯乙烯衍生物可抑制 pA104R 的 DNA 结合能力,进而阻断病毒复制^[20]。目前对这两种 DNA 结合蛋白的具体功能作用机制的了解仍然有限,未来的进一步研究将有望揭示它们在 ASFV 基因组的复制和转录中的更深入的作用机理。

3.3 参与病毒复制和转录的酶蛋白

pQP509L 和 pQ706L 蛋白属于 ASFV 的 RNA 解旋酶类别, pP1192R 蛋白是 ASFV 基因组编码的拓扑异构酶 II (ASFV-Topo II)。在 ASFV 感染细胞后 12 h,可以在细胞核以及所谓的“病毒工厂”结构中检测到 pQP509L 蛋白,而 pQ706L 蛋白则专门在 VF 内被观测到。在病毒转录过程中,这两种蛋白似乎参与调节晚期病毒转录本的扩展与释放^[35]。pP1192R 蛋白定位于细胞质的病毒工厂,并具有持续有效地松弛 DNA 超螺旋结构的能力^[36]。在 ASFV 感染的中期和晚期, pP1192R 蛋白对病毒基因组的复制和转录表达发挥关键作用^[37]。由于其在这一过程中的核心作用,该酶被视为针对 ASF 药物开发和疫苗设计的理想潜在靶点。尽管如此,包括 p15、pB263R、pQP509L 及 pQ706L 在内的这些蛋白在 ASFV 的基因组转录过程中的具体机制及其他相关作用还未被完全揭示。对这些蛋白的结构和功能进行深入的研究将有助于我们理解并应对 ASFV 的持续演变,并可能为涉及针对 ASF 的疫苗提供新的思路。

3.4 参与病毒复制和转录的其他蛋白

此外, ASFV 编码的 pI73R、pB263R 和 pA224L 等蛋白也可以通过不同的作用机制作用于病毒基因组的复制或转录。其中, I73R 基因编码蛋白 (pI73R) 则在 ASFV 感染的早期阶段在细胞核中表达,随后转移至细胞质。这一蛋白具有抑制宿主基因表达的能力,从而证明 pI73R 在病毒复制初始阶段的重要性。值得一提的是, pI73R 已证明与 Z-DNA 结合结构域的结构具有相似性^[13],其关键残基在该结合域中高度保守,可能也参与免疫逃避。目前对 pI73R 在 ASFV 感染过程中的作用机制尚不清楚,需要进一步研究,为未来的药物和疫苗开发提供更多的线索。研究还发现,未充分表征的 pB263R 蛋白显示出具有 TATA 结合蛋白的特征, TATA 样序列的突变、替换或缺失能显著影响晚期基因的转录活性,这表明 pB263R 蛋白可能参与病毒基因的转录过程^[38]。此外, pA224L 蛋白被认为通过抑制核转录因子- κ B (NF- κ B) 和活化 T 细胞核因子 (NFAT) 的激活来参与病毒的转录过程。这些发现揭示了这些蛋白在病毒生命周期中可能扮演的角色,尤其是在转录调控方面^[39]。

4 参与 ASFV 翻译的蛋白

ASFV 的蛋白合成依赖于感染宿主的翻译机制,病毒基因组编码的 pg5R、pI215L 和 pDP71L 蛋白参与 ASFV 翻译过程。其中, pg5R 蛋白是唯一参与 mRNA 脱帽的蛋白,具有独特的 N 端螺旋结构域和 C 端经典 Nudix 结构域。Nudix 结构域能够与宿主细胞的 RNA 相互作用,去除 mRNA 上 5'帽,有利于感染初始阶段的病毒基因组的翻译表达^[13]。pI215L 蛋白(也称 UBCv1)是唯一已知的 E2-泛素结合酶,分布于细胞核和细胞质,在 ASFV 感染细胞 8 h 的 VF 中可以检测到。它具有可结合多种类型的多泛素链的催化结构域^[40]。在 ASFV 感染期间, UBCv1 能够与 40S 核糖体蛋白 RPS23 相互作用,阻止潜在的 mRNA 与其他因子结合以影响翻译;同时还能与真核翻译起始因子 eIF4E 结合并诱导该因子过表达,导致蛋白合成增加。此外, UBCv1 也在 ASFV 生命周期中影响哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 信号通路,对宿主翻译机制的调节和细胞蛋白表达起重要作用^[40]。pDP71L 蛋白在 ASFV 复制后期表达,它可以通过结合蛋白磷酸酶 1 催化亚基 PP1c 和抑制促凋亡蛋白 CHOP 来影响 ASFV 蛋白合成^[41]。eIF2 α 的可逆磷酸化是控制蛋白合成的关键限速步骤, pDP71L 可以通过募集 PP1c 抑制 eIF2 α 磷酸化从而降低其水平;同时, pDP71L 抑制 CHOP 的诱导有助于抑制细胞凋

亡,这也是增加病毒产生的重要因素^[42]。

5 促进 ASFV 增殖和免疫逃避的蛋白

通过内吞作用或巨胞饮作用侵入猪肺泡巨噬细胞之后,ASFV 便开始在这些细胞内大量繁殖和扩散。为了有效逃避宿主的免疫反应并实现其自身复制的最优效率,该病毒会利用编码的一系列多功能蛋白来干扰宿主细胞。这些蛋白的策略性表达不仅抑制了宿主细胞的免疫功能,还阻止了细胞凋亡,以及干扰了与宿主免疫应答相关的蛋白合成,从而确保病毒能够有效隐藏并充分利用宿主细胞资源进行增殖。

5.1 抑制宿主细胞凋亡,促进 ASFV 复制

在 ASFV 感染后期,宿主细胞如果提前进入凋亡阶段,这并不有利于病毒的大规模复制和释放。因此,为了保证完成其复制周期,该病毒的基因组经过进化,发展出一种针对细胞凋亡的特异性免疫逃逸机制。具体来说,病毒能够通过编码特定的蛋白来直接或间接地延长宿主细胞的存活时间,从而抑制凋亡过程。细胞凋亡主要有两条途径:外源性(死亡受体介导)途径和内源性(线粒体依赖)途径。ASFV 的基因组能编码如 pA179L、pA224L、pA151R 和 pEP153R 等蛋白,这些蛋白都具备抑制宿主细胞凋亡的能力。通过这种方式,病毒可以被宿主体免疫系统延缓发现和清除,进而实现免疫逃逸。这一策略为病毒自我繁殖创造了有利的条件,使其得以在宿主体内持续生存和扩散。

pA151R 非结构蛋白属于硫氧还蛋白,在 ASFV 早期和晚期均有表达。其 C 端含有一个带有两种半胱氨酸的 WCTKC 基序,与典型硫氧还蛋白位点基序相似,但又有着显著差异,猜测可能参与氧化还原途径^[20]。抑制 pA151R 表达可以减少病毒复制。然而 pA151R 与已知结构序列的同源性非常低,这导致对 pA151R 结构和功能机制知之甚少。

pA179L 蛋白是 BCL-2 样蛋白,与 BCL-2 序列相似,在上述两种细胞凋亡途径中均发挥抑制作用^[43]。pA179L 与猪促凋亡 Bcl-2 蛋白 Bax, Bak, Bim, Bid, Bad, Bik, Bmf, Hrk, Noxa 和 Puma 以及自噬调节剂 Beclin 和 BH3 基序结合,来抑制细胞凋亡信号传导和干扰宿主自噬信号传导^[43]。

pA224L 蛋白,是 ASFV 病毒周期中的晚期蛋白,也称为细胞凋亡抑制蛋白(IAPs),但与其他 IAP 家族不同的是,A224L 不存在经典 RING 序列,而 RING 基序是泛素酶连接酶活性所必需的,因此 A224L 没有此功能^[44]。pA224L 抑制细胞凋亡机制可以表现为通过抑制半胱天冬酶活性以促进细胞存活,还能够通过瞬时表达激活 NF- κ B 依赖性报告基因 C-

rel 来抑制细胞凋亡^[45]。

pEP153R 蛋白,是由 ASFV 开放阅读框 EP153R 基因编码的非必需蛋白,感染周期的早期和晚期均有表达,在感染后 6 h 即可检测到,具有 N 端高度糖基化特性^[42]。pEP153R 结构包含一个胞内 N 末端结构域、一个可能插入质膜的疏水片段和一个 C 型凝集素样结构域的胞外区域,因此 pEP153R 又被称为 ASFV 的 C 型凝集素蛋白^[45]。巨噬细胞等免疫细胞上存在与 C 型凝集素序列相似的受体,参与病原体-细胞相互作用。C 型凝集素蛋白被认为是一种潜在的保护性 ASFV 抗原。研究表明,pEP153R 在病毒感染早期通过影响 Caspase-3 活性和 p53 的反式激活活性来抑制细胞凋亡^[45]。而具有完整凝集素结构域的 pEP153R 是质膜上 MHC-I 表达受抑制的关键因素,可抑制 MHC-I 分子从内质网到细胞膜的胞吐过程以逃避免疫细胞的杀伤,但不影响其合成、成熟或降解。pEP153R 下调 MHC-I 表达是病毒对宿主免疫反应最有效和最完善的防御之一^[45]。研究证实,缺失 EP153R 基因的突变体感染细胞后可观察到半胱天冬酶活性增加和细胞死亡^[44]。而同时缺失 9GL 和 EP153R 基因,会显著降低单独缺失 9GL 的 ASFV 重组病毒的体外复制能力,降低其作为候选疫苗的保护效力,尽管可能会增加重组疫苗安全性,但也提示多基因缺失候选疫苗的设计需要更深入的研究^[21]。总之,pEP153R 的表达能促使病毒在感染宿主体内扩散和大量复制。

5.2 抑制 I 型干扰素产生,促进 ASFV 复制

ASFV 被感染细胞的免疫系统识别和攻击时,作为一种胞质 DNA 感受器,环状 GMP-AMP 合酶(cGAS)在其中发挥了重要作用。cGAS 可识别病毒 DNA,结合并激活干扰素基因刺激因子(STING),通过 cGAS-STING 信号通路介导宿主天然免疫应答并激活 I 型干扰素(IFN)的表达和 NF- κ B 激活,从而产生抗病毒作用。这是宿主抵御 ASFV 感染最为关键的自然免疫应答通路之一。此外,宿主细胞也可以通过 Janus 激酶-转录激活蛋白(JAK-STAT)信号通路,与胞膜上的干扰素受体结合,诱导干扰素刺激基因(ISGs)表达,产生 IFN 以抵抗 ASFV 感染,产生抗病毒反应。为了逃逸宿主细胞的先天免疫应答,创造良好的生存和繁殖条件,ASFV 基因组编码了许多免疫逃逸蛋白,抑制 I 型 IFN 表达,以实现免疫逃逸。研究发现,ASFV China 2018/1 毒株的 pDP96R 是一个保守的早期表达蛋白^[30],可通过抑制 cGAS-STING 介导的 TBK1 磷酸化来抑制 IFN- β 和干扰素刺激应答元件(ISRE)启动子的激活,但不抑制由干扰素调节因子 3-5D(IRF3-5D)介导的激活。TBK1

是 cGAS-STING 通路中的关键转录因子。pDP96R 也可以抑制 cGAS-STING、TBK1 和 I κ B 激酶 β (IKK β) 介导的 NF- κ B 激活。IKK β 、IKK ϵ 是 IKK 复合物中介导 NF- κ B 信号传导和 cGAS-STING 通路的关键亚基。此外,已证实 pDP96R 的 C 端第 30~96 位氨基酸 (aa) 发挥抑制活性作用。最近研究表明, p17 蛋白与 STING 的直接相互作用可干扰 TBK1 和 IKK ϵ 的募集,从而抑制 cGAS-STING 通路^[46]。有研究认为, p17 蛋白的跨膜结构域 (39~59 aa) 可能是关键作用位点。p14.5 (pE120R) 也可以通过抑制 cGAS-STING 信号通路的关键点 (如 STING、IRF3 和 TBK1) 的磷酸化来抑制 IFN- β 信号通路^[47]。p14.5 蛋白 C 端结构域的 72~73 aa 为抑制活性的关键位点。此外, p14.5 蛋白可以通过抑制 p50 和 p65 核转移负调控 NF- κ B^[47]。

pMGF110、pMGF360 和 pMGF505/530 基因编码蛋白是由 ASFV 基因组编码的多基因家族蛋白成员,也称为 I 型干扰素抑制剂,通过延长感染细胞的存活时间以促进病毒在体内大量繁殖。删除多基因家族蛋白的关键基因会导致病毒传染性降低并诱导机体保护机制产生。如,缺失 *MGF110-9L* 和 *MGF505-7R* 基因后,病毒可以通过募集自噬激活剂 PIK3C2B 来抑制 TBK1 的降解^[48]。其中, pMGF360-15R (pA276R) 可以通过 Toll 样受体 3 (TLR3) 和胞质途径抑制 IRF3 以产生有限的细胞 I 型 IFN 诱导,但不抑制 IRF7 和 NF- κ B^[49]。pMGF505-7R (pA528R) 可以与 STING 相互作用并表现出多重抑制作用。具体表现为, pMGF505-7R (pA528R) 诱导自噬相关蛋白 (ULK1) 表达来降低 STING,从而抑制 cGAS-STING 信号通路; pMGF505-7R (pA528R) 也可以通过 IRF3 核易位作用抑制 NF- κ B^[49]。pMGF360-11L 可以抑制 cGAS、STING、TBK1、IKK ϵ 、IRF7 和 IRF3-5D 介导的 IFN- β 和 ISRE 启动子的激活,且已证实 pMGF360-11L 的 167-353aa 是抑制激活的关键位点^[50]。pMGF360-9L 可以通过细胞凋亡和泛素-蛋白酶体途径降解 STAT1 和 STAT2,抑制 IFN- β 产生^[51]。pMGF360-14L 可以通过促进 E3 连接酶 TRIM21 介导的 K63 连接泛素化来抑制 IRF3^[52]。

近两年,科学家们继续深入研究 ASFV 免疫逃逸机制并取得了新进展。研究发现,泛素偶联酶 UBCv1 可以通过抑制 TBK1 的 K63 连接多泛素化,靶向 NF- κ B 和 AP-1 信号通路来操纵先天免疫应答;也可以通过自噬溶酶体途径介导 IRF9 降解和通过泛素-蛋白酶体途径介导 STAT2 降解,干扰 ISG3 形成^[52]。Liu 等^[53]发现 ASFV pB318L 蛋白可以与 STING 相互作用,并抑制 STING 从内质网向高尔基体的易位,

从而干扰 IFN 的诱导;也可以通过 JAK-STAT 信号通路,抑制 ISGs 表达。Ye 等^[54]阐明了 ASFV pH240R 衣壳蛋白可以通过干扰 IFNAR1-TYK2 和 IFNAR2-JAK1 的相互作用以及 ISGF3 的三聚体形成,抑制 IFN- α 诱导的 STAT1、STAT2 磷酸化和核输入并阻断 ISRE、ISG54 和 ISG56 启动子激活,从而抑制 ISGs 表达,增强病毒复制。Li 等^[55]证明, ASFV pA151R 蛋白可以通过降解 E3 连接酶 TRAF6 负性调控 IFN-I 的产生。pA151R 可以与 TRAF6 相互作用,并通过细胞凋亡途径降解 TRAF6,干扰 TBK1 的磷酸化和 K63 连接的多泛素化激活,从而在 cGAS-STING-TBK1 信号通路介导的 IFN-I 产生中发挥重要作用。晚期蛋白 pA137R 被发现可以介导 TBK1 的自噬体和溶酶体依赖性降解,阻断 IRF3 核易位,抑制 IFN- β 及 ISRE 启动子活性,进而抑制 I 型干扰素反应^[56]。有研究支持 pA104R 核蛋白是 IFN-I 抑制剂的观点,认为 pA104R 可以通过减弱 STAT1 磷酸化来抑制 IFN 信号,可能参与干扰多种信号通路^[57]。但这一作用并不是通过其 DNA 结合能力来诱导的。另外,宿主细胞也可以通过形成应激颗粒 (SGs) 诱导 IFN 产生以抵抗病毒感染。ASFV 编码的半胱氨酸酶 pS273R 蛋白可以显著抑制 SGs 形成^[58]。核蛋白 G3BP1 是 SGs 形成的核心成分。pS273R 可以与 G3BP1 相互作用并特异性切割 G3BP1 以拮抗 SGs 的形成,从而抑制 IFN- β 产生,促进病毒复制。pS273R 蛋白也可以通过干扰 TBK1 和 IRF3 的相互作用影响 IKK ϵ 的 SUMO 化,以及介导 STAT2 降解来抑制 IFN- β ^[59-60]。

除上述提及的免疫抑制蛋白外,ASFV 编码的 pD345L、pA238L、pE184L、pI329R、pB175L、pE301R、pI226R、pM1249L 和 pMGF505-11R 等蛋白也可以抑制 IFN-I 产生,在促进 ASFV 免疫逃逸方面发挥了重要作用^[46,49,52,61]。科学家已经发现了许多免疫抑制蛋白的作用机制,还有更多的蛋白需要进一步的发现和研究。综上,这些蛋白参与了 I 型 IFN 的表达调控,是 ASFV 毒力点的关键决定因素。在基因工程层面上进行 I 型 IFN 调节剂的删除有望成为 ASFV 减毒候选疫苗株研发的合理途径,极具研究价值。

6 总结与展望

经过几年的演变和进化,ASFV 已经稳定存在于我国。虽然我国流行的 ASFV 毒株的毒力呈现逐渐减弱的现象,但是也呈现了早期症状减轻和传播速度加快的现象,这给 ASF 的防控带来了新的挑战。安全有效的高质量疫苗是防控 ASF 的关键。近年来,随着对 ASFV 编码蛋白结构和功能研究的不断深入,科学家对 ASFV 的相关作用机制有了更进一步的解析。

但由于 ASFV 基因组庞大且复杂, 编码大量免疫逃逸蛋白, 对宿主免疫反应的调节机制仍未完全明确等原因, 导致 ASF 疫苗研发进展不顺利, 目前尚无有效的疫苗或特效药来防治 ASF。综述 ASFV 的蛋白有助于筛选具有良好保护作用的免疫抗原, 针对性设计更有效的 ASF 疫苗。加强对 ASFV 蛋白结构和功能的研究, 深入了解病毒的感染机制和免疫逃逸机制, 继续探寻编码免疫原性蛋白的基因以及筛选更有效的免疫保护靶点, 可以加快 ASF 疫苗的研发。之前的研究已经发现 CD2v、p72、p54、pB119L 等蛋白具有良好免疫原性, 并对表达相应蛋白的载体疫苗株进行了预期实验, 发现这些疫苗候选株对 ASFV 感染具有一定的保护力^[4,15,21]。在目前研发的 ASF 疫苗中, 减毒活疫苗最具有候选潜力。其中, ASFV-G- $\Delta I177L$ 减毒活疫苗候选株在试验中表现出优秀的无菌免疫效果, 已被证明是一种可行的安全候选疫苗^[62]。另外, 我国备受关注的多基因家族和 CD2v 基因缺失减毒活疫苗 HLJ/18-7GD^[63], 已经被证明可以有效保护猪免受中国目前出现的基因 II 型 ASFV 的挑战, 有望成为预防和控制 ASF 的替代策略。

未来, 疫苗研发仍然是 ASF 防控的关键。传统的 ASF 灭活疫苗不具备研发优势, 而目前 ASF 减毒活疫苗显示出了优良的应用潜力, 但由于存在毒力反强等安全问题, 研究进展缓慢。因此, 针对已展现良好保护性的减毒活疫苗, 需要重点监测疫苗候选株的安全性和免疫效果, 进行生物安全评估, 筛选出最理想的减毒活疫苗。在疫苗的安全性和有效性未得到切实验证之前, 严格禁止不合格疫苗、劣质疫苗和非法疫苗等流入市场。另外, 新一代的 ASFV 基因工程疫苗具有强大的研发潜力, 包括亚单位疫苗、病毒载体疫苗、DNA 疫苗以及新兴的 mRNA 疫苗。其中, 基于蛋白研制的基因工程疫苗具备抗原靶向性, 能够发挥高效的特异性免疫反应, 是 ASF 疫苗的重要研究方向。然而, 现有的基因工程疫苗普遍缺乏广泛的抗原谱, 难以产生足够的交叉保护效力, 所以需要考虑同时针对多个有效抗原蛋白进行疫苗研发。因此, 未来需要进一步加强对 ASFV 全基因组的监测, 着重解析病毒编码蛋白的结构和功能, 研究病毒致病机理, 筛选多个优良的保护性抗原基因, 评估蛋白免疫原性和保护效力, 完善抗原谱。

参考文献:

- [1] KARGER A, PEREZ-NUNEZ D, URQUIZA J, et al. An update on African swine fever virology [J]. *Viruses*, 2019, 11 (9): 864.
- [2] MARTÍNEZ-AVILÉS M, IRENE I, DE LA TORRE A. Evolution of the ASF infection stage in wild boar within the EU (2014–2018) [J]. *Front Vet Sci*, 2020, 7: 155.
- [3] LIU Y, ZHANG X, QI W, et al. Prevention and control strategies of African swine fever and progress on pig farm repopulation in China [J]. *Viruses*, 2021, 13 (12): 2552.
- [4] ZHANG H, ZHAO S, ZHANG H, et al. Vaccines for African swine fever: an update [J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1139494.
- [6] GALINDO I, ALONSO C, DIXON L, et al. African swine fever virus: a review [J]. *Viruses*, 2017, 9 (5): 103.
- [7] ALEJO A, MATAMOROS T, GUERRA M, et al. A proteomic atlas of the African swine fever virus particle [J]. *J Virol*, 2018, 92 (23): e01293-18.
- [8] 何庆, 邹亚文, 王东亮, 等. 非洲猪瘟病毒跨膜蛋白 CD2v 的结构与功能研究进展 [J]. *病毒学报*, 2021, 37 (5): 1244–1251.
- [9] WANG Y, KANG W F, YANG W P, et al. Structure of African swine fever virus and associated molecular mechanisms underlying infection and immunosuppression: a review [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 715582.
- [10] CAROLINA E, JACOMINE K L, SALAS M L, et al. Generation of filamentous instead of icosahedral particles by repression of African swine fever virus structural protein pB438L [J]. *J Virol*, 2006, 80 (23): 11456–11466.
- [11] WANG N, ZHAO D, WANG J, et al. Architecture of African swine fever virus and implications for viral assembly [J]. *Science*, 2019, 366 (6465): 640–644.
- [12] ANDRES G, GARCIA-ESCUADERO R, VINUELA E, et al. African swine fever virus structural protein pE120R is essential for virus transport from assembly sites to plasma membrane but not for infectivity [J]. *J Virol*, 2001, 75 (15): 6758–6768.
- [13] YANG S, MIAO C, LIU W, et al. Structure and function of African swine fever virus proteins: current understanding [J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1043129.
- [14] ZHENG W, XIA N, ZHANG J, et al. African swine fever virus structural protein p17 inhibits cGAS – STING signaling pathway through interacting with STING [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 941579.
- [15] WANG C X, QIU S Y, XIA Y, et al. Development of a blocking ELISA Kit for detection of ASFV antibody based on a monoclonal antibody against full length p72 [J]. *J AOAC Int*, 2022, 105 (5): 1428–1436.
- [16] ANDRES G, ALI A, JOSE S, et al. African swine fever virus polyproteins pp220 and pp62 assemble into the core shell [J]. *J Virol*, 2002, 76 (24): 12473–12482.
- [17] ANDRES G, SIMON-MATEO C, VINUELA E. Assembly of African swine fever virus: role of polyprotein pp220 [J]. *J Virol*, 1997, 71 (3): 2331–2341.
- [18] ALEJO A, GAECIA-CASTEY M, GUERRA M, et al. African swine fever virus transmembrane protein pEP84R guides core assembly [J]. *PLoS Pathog*, 2023, 19 (1): e1011136.
- [19] 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.
- [20] WANG G G, XIE M J, WU W, et al. Structures and functional diversities of ASFV proteins [J]. *Viruses*, 2021, 13 (11): 2124.

- [21] GLADUE D P, O'DONNELL V, RAMIREZ-MEDUNA 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 (10): 1185.
- [22] EPIFANO C, KRIJNSE-LOCKER J, SALAS M L, et al. The African swine fever virus nonstructural protein pB602L is required for formation of the icosahedral capsid of the virus particle [J]. *J Virol*, 2006, 80 (24): 12260-12270.
- [23] 杨扬, 张妍, 张俊杰, 等. 非洲猪瘟病毒 B602L 蛋白在杆状病毒表达系统中的表达及多抗制备 [J]. *畜牧与兽医*, 2022, 54 (9): 66-70.
- [24] GALINDO I, CUESTA-GEIJO MA, HLAVOVA K, et al. African swine fever virus infects macrophages, the natural host cells, via clathrin- and cholesterol-dependent endocytosis [J]. *Virus Res*, 2015, 200: 45-55.
- [25] JAVIER M R, RAMON E, MARIA S, et al. African swine fever virus structural protein p54 is essential for the recruitment of envelope precursors to assembly sites [J]. *J Virol*, 2004, 78 (8): 4299-4313.
- [26] DUAN X H, RU Y, YANG W P, et al. Research progress on the proteins involved in African swine fever virus infection and replication [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 947180-947194.
- [27] IRENE R, MARIA N L, MODESTO R R, et al. The African Swine Fever Virus virion membrane protein pE248R is required for virus infectivity and an early postentry event [J]. *J Virol*, 2009, 83 (23): 12290-12300.
- [28] HU C X, LI S, ZHOU J, et al. *In vitro* SELEX and application of an African swine fever virus (ASFV) p30 protein specific aptamer [J]. *Sci Rep*, 2024, 14 (1): 4078.
- [29] NANDY S, BORA N R, GAURAV S, et al. The p30 protein of the African swine fever virus behaves as an RNase [J]. *Virology*, 2024, 590: 109967.
- [30] WANG X X, WU J, WU Y T, et al. Inhibition of cGAS-STING-TBK1 signaling pathway by DP96R of ASFV China 2018/1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 506 (3): 437-443.
- [31] HAKIZIMANA J N, NYABONGO L, NDIRANDEKURA J B, et al. Genetic analysis of African swine fever virus from the 2018 outbreak in South-Eastern Burundi [J]. *Front Vet Sci*, 2020, 7: 578474.
- [32] NUNES-CORREIA I, RODRIGUEZ J M, EULALIO A, et al. African swine fever virus p10 protein exhibits nuclear import capacity and accumulates in the nucleus during viral infection [J]. *Vet Microbiol*, 2007, 130 (1): 47-59.
- [33] CLAUDIA I, JESSICA M, PEDRO B, et al. In silico characterization of African swine fever virus nucleoprotein p10 interaction with DNA [J]. *Viruses*, 2022, 14 (11): 2348.
- [34] FROUCO G, FREITAS F B, COELHO J, et al. DNA-binding properties of African swine fever virus pA104R, a histone-like protein involved in viral replication and transcription [J]. *J Virol*, 2017, 91 (12): e02498-16.
- [35] FREITAS F B, FROUCO G, MARTINS C, et al. The QP509L and Q706L superfamily II RNA helicases of African swine fever virus are required for viral replication, having non-redundant activities [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2019, 8 (1): 291-302.
- [36] COELHO J, FERREIRA F, MARTINS C, et al. Functional characterization and inhibition of the Type II DNA topoisomerase coded by African swine fever virus [J]. *Virology*, 2016, 493: 209-216.
- [37] FREITAS F B, FROUCO G, MARTINS C, et al. *In Vitro* inhibition of African swine fever virus-topoisomerase II disrupts viral replication [J]. *Antiviral Res*, 2016, 134: 34-41.
- [38] KINYANYI D, ONIERO G, ONIERO F G, et al. In silico structural and functional prediction of African swine fever virus protein-B263R reveals features of a TATA-binding protein [J]. *Peer J*, 2018, 6: e4396.
- [39] SANCHEZ E G, QUINTAS A, NOGAL M, et al. African swine fever virus controls the host transcription and cellular machinery of protein synthesis [J]. *Virus Res*, 2013, 173 (1): 58-75.
- [40] LUCIA G B, ANA P D, RAQUEL M M, et al. African swine fever virus ubiquitin-conjugating enzyme interacts with host translation machinery to regulate the host protein synthesis [J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 622907.
- [41] ZHANG F Q, ALICE M, KAY C, 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]. *J Virol*, 2010, 84 (20): 10681-10689.
- [42] HURTADO C, GRANJA G A, BUSTOS J M, et al. The C-type lectin homologue gene (EP153R) of African swine fever virus inhibits apoptosis both in virus infection and in heterologous expression [J]. *Virology*, 2004, 326 (1): 160-170.
- [43] REIS A L, RATHAKRISHNAN A, GOUDING L V, et al. Deletion of the gene for the African swine fever virus BCL-2 family member A179L increases virus uptake and apoptosis but decreases virus spread in macrophages and reduces virulence in pigs [J]. *J Virol*, 2023, 97 (10): e0110623.
- [44] DIXON L K, SANCHEZ-CORDON P J, GALINDO I, et al. Investigations of pro- and anti-apoptotic factors affecting African swine fever virus replication and pathogenesis [J]. *Viruses*, 2017, 9: 241.
- [45] HURTADO C, BUSTOS M J, GRANJA A G, et al. The African swine fever virus lectin EP153R modulates the surface membrane expression of MHC class I antigens [J]. *Arch Virol*, 2011, 156 (2): 219-234.
- [46] ZHENG W L, XIA N W, ZHANG J J, et al. African swine fever virus structural protein p17 inhibits cGAS-STING signaling pathway through interacting with STING [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 941579.
- [47] CUI S, WANG Y, CHEN S Y, et al. African swine fever virus E120R inhibited cGAS-STING-mediated IFN-β and NF-κB pathways [J]. *Anim Res One Health*, 2024, 2 (1): 39-49.
- [48] ZHU G Q, REN J J, LI D, et al. Combinational deletions of MGF110-9L and MGF505-7R genes from the African swine fever virus inhibit TBK1 degradation by an autophagy activator PIK3C2B to promote type I interferon production [J]. *J Virol*, 2023, 97 (5): e0022823.
- [49] CORREIA S, VENTURA S, PARKHOUSE R M, et al. Identification and utility of innate immune system evasion mechanisms of ASFV [J]. *Virus Res*, 2013, 173 (1): 87-100.
- [50] YANG K D, XUE Y, NIU H, et al. African swine fever virus MGF360-11L negatively regulates cGAS-STING-mediated

- inhibition of Type I interferon production [J]. *Vet Res*, 2022, 53 (1): 7.
- [51] ZHANG K S, YANG B, SHEN C C, et al. MGF360-9L is a major virulence factor associated with the African swine fever virus by antagonizing the JAK/STAT signaling pathway [J]. *mBio*, 2022, 13 (1): e0233021.
- [52] YU L Z, ZHU Z B, DENG J H, et al. Antagonisms of ASFV towards host defense mechanisms: knowledge gaps in viral immune evasion and pathogenesis [J]. *Viruses*, 2023, 15 (2): 574.
- [53] LIU X H, CHEN H F, YE G Q, et al. African swine fever virus pB318L, a trans-geranylgeranyl-diphosphate synthase, negatively regulates cGAS-STING and IFNAR-JAK-STAT signaling pathways [J]. *PLoS Pathog*, 2024, 20 (4): e1012136.
- [54] YE G Q, ZHANG Z X, LIU X H, et al. African swine fever virus pH240R enhances viral replication via inhibition of the Type I IFN signaling pathway [J]. *J Virol*, 2024, 98 (3): e0183423.
- [55] LI Y, HUANG L, LI H, et al. ASFV pA151R negatively regulates Type I IFN production via degrading E3 ligase TRAF6 [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1339510.
- [56] SUN M W, YU S X, GE H L, et al. The A137R protein of African swine fever virus inhibits Type I interferon production via the autophagy-mediated lysosomal degradation of TBK1 [J]. *J Virol*, 2022, 96 (9): e0195721.
- [57] CHEN Q C, LI L, GUO S B, et al. African swine fever virus pA104R protein acts as a suppressor of Type I interferon signaling [J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1169699.
- [58] LI T T, LI X W, WANG X, et al. African swine fever virus pS273R antagonizes stress granule formation by cleaving the nucleating protein G3BP1 to facilitate viral replication [J]. *J Biol Chem*, 2023, 299 (7): 104844.
- [59] LI H, ZHENG X J, LI Y, et al. African swine fever virus S273R protein antagonizes Type I interferon production by interfering with TBK1 and IRF3 interaction [J]. *Virol Sin*, 2023, 38 (6): 911-921.
- [60] LI Y H, PENG J L, XU Z S, et al. African swine fever virus cysteine protease pS273R inhibits Type I interferon signaling by mediating STAT2 degradation [J]. *J Virol*, 2023, 97 (3): e0194222.
- [61] RANTHUNGA L, DODANTENNA N, CHA J W, et al. African swine fever virus B175L inhibits the Type I interferon pathway by targeting STING and 2'3'-cGAMP [J]. *J Virol*, 2023, 97 (11): e0079523.
- [62] TRAN X H, PHUONG L T T, HUY N Q, et al. Evaluation of the safety profile of the ASFV vaccine candidate ASFV-G-ΔI177L [J]. *Viruses*, 2022, 14 (5): 896.
- [63] WANG Z L, ZHANG J W, LI F, et al. The attenuated African swine fever vaccine HLJ/18-7GD provides protection against emerging prevalent genotype II variants in China [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2024, 13 (1): 2300464.