

余群, 邹艳丽, 陈欢, 等. 非洲猪瘟病毒蛋白 pS183L 的原核表达及多克隆抗体制备 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (2): 112-117.

YU Q, ZOU Y L, CHEN H, et al. Prokaryotic expression of African swine fever virus pS183L and generation of its polyclonal antibody [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (2): 112-117.

非洲猪瘟病毒蛋白 pS183L 的原核表达及多克隆抗体制备

余群¹, 邹艳丽², 陈欢¹, 刘珊², 苗雨润¹, 任炜杰², 王振忠^{1,2},
何佳依¹, 高晓宇¹, 钱莺娟¹, 吴晓东^{2*}, 郑龙三^{1*}

(1. 南京农业大学动物医学院/教育部动物健康与食品安全国际合作联合实验室/农业农村部细菌学重点实验室, 江苏 南京 210095;

2. 中国动物卫生与流行病学中心/国家非洲猪瘟参考实验室, 山东 青岛 266000)

摘要: 旨在制备非洲猪瘟病毒 (ASFV) 非结构蛋白 pS183L 的多克隆抗体。根据公布的毒株 ASFV China/2018/Anhui XCGQ 基因序列设计引物, 酶切连接法构建重组质粒 pET-28a-S183L; 经鉴定成功的质粒转化大肠杆菌 Rosetta, 诱导表达后经镍柱亲和和层析纯化后获得重组蛋白 pS183L。免疫小鼠并制备抗 pS183L 的多克隆抗体。通过 ELISA 鉴定多克隆抗体效价大于 1 : 128 000; Western blot 和间接免疫荧光试验 (IFA) 表明, 该多克隆抗体能识别 293T 和 PK15 细胞外源表达蛋白及 ASFV 感染猪肺泡巨噬细胞 (PAMs) 内源表达蛋白。综上, 本研究成功制备抗 pS183L 多克隆抗体, 为深入研究 ASFV pS183L 的功能提供了关键生物材料。

关键词: 非洲猪瘟病毒; pS183L; 多克隆抗体;

中图分类号: S852.4 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)02-0112-06

Prokaryotic expression of African swine fever virus pS183L and generation of its polyclonal antibody

YU Qun¹, ZOU Yanli², CHEN Huan¹, LIU Shan², MIAO Yurun¹, REN Weijie², WANG Zhenzhong^{1,2},
HE Jiayi¹, GAO Xiaoyu¹, QIAN Yingjuan¹, WU Xiaodong^{2*}, JUNG Yongsam^{1*}

(1. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University/MOE Joint International Research Laboratory of Animal Health and Food Safety/Key Laboratory of Animal Bacteriology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing 210095, China;

2. China Animal Health and Epidemiology Center/National African Swine Fever Reference Laboratory, Qingdao 266000, China)

Abstract: To explore the role of pS183L, an uncharacterized protein, in ASFV infection, we generated an anti-pS183L polyclonal antibody. Firstly, primers were designed based on the genome sequence of the ASFV China/2018/Anhui XCGQ strain, and recombinant plasmid pET-28a-S183L for prokaryotic expression was constructed. After colony PCR and sequencing identification, the recombinant plasmid was transformed into *E. coli* Rosetta cells, induced by IPTG and purified by nickel column affinity chromatography to obtain the recombinant protein pS183L. Polyclonal antibody against pS183L was obtained by immunizing BALB/c mice. The titer of the polyclonal antibody determined by ELISA was 1 : 128 000. Western blot and IFA assay showed that the polyclonal antibody was able to recognize exogenously expressed pS183L in 293T and PK15 cells, as well as endogenously expressed proteins in PAMs infected with ASFV. In summary, one polyclonal antibody against pS183L was successfully obtained in this study, providing key biomaterials for in-depth research on the function of ASFV pS183L.

Keywords: African swine fever virus; pS183L; polyclonal antibody

收稿日期: 2024-03-14; 修回日期: 2024-12-24

基金项目: 国家重点研发计划资助项目 (2021YFD1801200); 江苏省重点研发计划 (现代农业) 重点项目 (SBE2020310346)

第一作者: 余群, 女, 硕士研究生。

* 通信作者: 郑龙三, 韩国, 教授, 博士生导师, 研究方向为动物传染病防控, E-mail: ysjung@njau.edu.cn; 吴晓东, 研究员, 博士, 研究方向为重大外来动物疫病的综合防控技术研究, E-mail: wuxiaodong@cahec.cn。

非洲猪瘟 (ASF) 是由非洲猪瘟病毒 (ASFV) 引起的一种急性出血性传染病。ASF 是世界动物卫生组织法定通报的传染病, 于 2018 年首次在中国沈阳出现^[1], 随后迅速席卷全国, 给中国养猪业带来了巨大的经济损失^[2-3]。根据 B646L 基因序列差异, ASFV 被分为 24 种基因型, 我国主要流行基因 I 型和 II 型。目前 ASF 无特效药和安全有效的商用疫苗, 因此我国对 ASF 的防控主要依赖于严格的生物安全措施, 包括人员车辆等严格消毒、封闭式管理猪场、严格的动物检疫及无害化处理等。

ASFV 是具有囊膜的双链 DNA 病毒, 病毒粒子呈现二十面体, 基因组大小约 170~190 kb, 编码至少 150~200 个病毒蛋白^[4], 主要参与病毒复制、转录和翻译、病毒粒子的组装及免疫逃逸等过程^[5]。目前, 约一半的蛋白功能不详或完全未知。研究表明, 基因缺失减毒苗能够提供完全同源保护, 但存在毒力返强、无交叉保护等问题^[6-8]。因此, 研究 ASFV 未知蛋白功能, 明确其在病毒感染中的作用, 能够为研发疫苗提供新靶点。

pS183L 是非洲猪瘟编码的非结构蛋白, 蛋白大小约 20 kDa, 功能未知。为探索 pS183L 在 ASFV 感染过程中的功能, 本研究以 pS183L 为靶蛋白, 制备多克隆抗体, 经鉴定该多克隆抗体能用于检测外源性或 ASFV 感染的内源性 pS183L, 为深入研究 pS183L 的作用机制奠定了材料基础。

1 材料与方法

1.1 病毒、细胞及实验动物

ASFV China/2018/Anhui XCGQ 毒株、原代猪肺泡巨噬细胞 (PAMs) 由中国动物卫生与流行病学中心分离并保存。大肠杆菌 DH5 α 、Rosetta 细胞、人肾上皮细胞 (293T)、猪肾细胞 (PK15) 由本实验室保存。4~6 周龄 SPF 级 BALB/c 小鼠 (雌性) 来源于扬州大学比较医学中心。本研究涉及的 ASFV 感染细胞试验在中国动物卫生与流行病学中心生物安全 3 级实验室中严格完成。

1.2 主要试剂

限制性核酸内切酶 *Bam*H I、*Xho* I 及 T4 DNA 连接酶均购自英国 NEB 公司。蛋白纯化镍柱购自美国 GE 公司。Alexa Flour 488 绿色荧光标记的山羊抗鼠 IgG (H+L) 购自 Invitrogen 公司。异丙基硫代半乳糖苷 (IPTG) 购自 Biosharp 公司。HRP 标记的山羊抗鼠二抗购自 Millipore 公司。鼠源 Flag 抗体、弗氏不完全佐剂和弗氏完全佐剂均购自美国 Sigma 公司。p30 和 p72 抗体由本实验室保存。鼠源 Actin 抗体购自 Proteintech 公司。TMB 显色液购自天根生化

科技 (北京) 有限公司。

1.3 重组质粒 pET-28a-S183L 的构建

根据 NCBI 公布的 ASFV China/2018/Anhui XCGQ (GenBank: MK128995.1) 中 S183L 基因的核苷酸序列, 经 DNASTar 分析亲疏水性和抗原性, 设计表达 pS183L 免疫原性较好区域 (10~168 aa), 引物设计为, F: 5'-CGCGGATCCTACTCTCTGAATAACTGGGCAAGATAC-3' (下划线处为 *Bam*H I 酶切位点), R: 5'-CCGCTCGAGCAATTTTTCCAATCTCAAGATATAGCC-3' (下划线处为 *Xho* I 酶切位点)。用实验室保存的真核表达质粒 pcDNA3-2 \times Flag-S183L 作为模板, PCR 扩增靶序列。双酶切载体 pET-28a 和 PCR 回收产物, T4 连接酶 25 $^{\circ}$ C 连接 30 min 后, 将连接产物转化入 DH5 α , 37 $^{\circ}$ C 培养于卡那抗性的 LB 固体培养基平板。挑取单菌落进行 PCR 鉴定, 并送至南京擎科生物公司测序, 测序成功的重组质粒命名为 pET-28a-S183L。

1.4 重组蛋白的表达和纯化

将重组质粒 pET-28a-S183L 转化大肠杆菌 Rosetta, 37 $^{\circ}$ C 培养 $OD_{600\text{nm}}$ 值至 0.6~0.8, 加入 IPTG 9 μ L (终浓度 1 mmol/L) 诱导表达重组蛋白。分别在诱导前和诱导后的 3、4、5、6 h 取样 1 mL, 12 000 r/min 离心 3 min 后弃上清液, 加入 200 μ L PBS 重悬菌体, 再加入等量样品缓冲液于 98 $^{\circ}$ C 变性 10 min, SDS-PAGE 鉴定重组蛋白的最佳诱导时间。取诱导 6 h 菌液 2 mL 收集菌体, 400 μ L PBS 重悬并超声裂解菌体, 待裂解充分后以 12 000 r/min 离心 3 min 分离上清液和包涵体蛋白, 包涵体蛋白用等体积 PBS 重悬, 再分别加入样品缓冲液于 98 $^{\circ}$ C 变性 10 min, SDS-PAGE 分析重组蛋白的可溶性。以上述筛选的最佳诱导时间大量表达 pS183L (250 mL), 8 000 r/min 重复离心直至收集全部菌体, 通过反复冻融和超声充分裂解菌体, 于 8 000 r/min 离心 20 min 收集含有目的蛋白的包涵体。将包涵体蛋白 4 $^{\circ}$ C 过夜溶解于 7 mol/L 尿素结合缓冲液中, 8 000 r/min 离心 10 min 取上清液并过滤得到变性蛋白。使用镍柱纯化并经尿素梯度稀释复性后得到纯化后重组蛋白。

1.5 抗 pS183L 多克隆抗体的制备

纯化后 pS183L 与等体积的弗氏佐剂 (弗氏完全佐剂首免, 弗氏不完全佐剂二免) 混匀并乳化后皮下免疫小鼠, 第 3 次加强免疫腹腔注射纯化后蛋白。每只小鼠免疫蛋白剂量为 50 μ g, 3 次免疫时间间隔 2 周。加强免疫 2 周后采血并处死小鼠, 分离血清收集多克隆抗体。

1.6 多克隆抗体的 ELISA 效价测定

使用碳酸盐缓冲液稀释纯化后 pS183L 至 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 4 $^{\circ}\text{C}$ 包被过夜。弃掉包被液后加入 3% 脱脂乳 37 $^{\circ}\text{C}$ 封闭 1 h。取 1 μL 收集的抗 pS183L 抗体加入 999 μL PBST 混匀, 每孔加入 100 μL 稀释液, 再倍比稀释至 1 : 128 000, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h。PBST 清洗 3 次后加入 1 : 5 000 的山羊抗鼠二抗, 再次以相同条件孵育。PBST 清洗 3 次后加入 TMB 避光反应, 20 min 后加入终止液终止显色, 酶标仪读取 $OD_{450\text{nm}}$ 值。根据 $P/N \geq 2$ 的最低抗体稀释度判定为该多克隆的效价。

1.7 多克隆抗体的 Western blot 鉴定

将 50% 密度的 293T 和 PK15 细胞培养于 3.5 cm 培养皿中, 24 h 后转染真核质粒 pcDNA3-2 \times Flag-S183L 或 pcDNA3-2 \times Flag 1 μg , 24 h 后弃上清液, PBS 清洗后加入 200 μL 样品缓冲液, 收集细胞样, 98 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min; 将 ASFV China/2018/Anhui XCGQ 以 $\text{MOI}=2$ 分别感染 PAMs 3、6、12、24、36 h 后收集细胞样, 98 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min, 用于 Western blot 鉴定。

将制备好的 SDS-PAGE 凝胶放入电泳槽, 加入电泳缓冲液。待检测样 10 $\mu\text{L}/\text{孔}$, 浓缩胶电压 60 V, 分离胶电压 110 V。待蛋白样电泳至凝胶底部转膜。用三明治法即滤纸-NC 膜-凝胶-滤纸包裹蛋白凝胶, 放入垂直转印仪中, 加入转印液, 200 mA 恒流转印蛋白 120 min。待转膜结束后, 室温 3% 脱脂乳封闭

30 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育一抗 (pS183L 抗体稀释倍数 1 : 100, Flag 抗体稀释倍数 1 : 3 000), 1 \times PBST 洗膜 3 遍 (分别洗 10、10 和 15 min) 后 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育二抗 (HRP 标记山羊抗鼠 IgG 稀释倍数为 1 : 4 000) 4 h。1 \times PBST 洗膜 (同上) 后在化学发光液 (ECL) 作用下显色, 在 UVP 成像仪中成像。

1.8 多克隆抗体的 IFA 鉴定

将 40% 密度的 293T 细胞培养于加盖玻片的 6 cm 培养皿中, 24 h 后转染质粒 pcDNA3-2 \times Flag-S183L 或 pcDNA3-2 \times Flag 1.5 μg 。转染后 4 h 换新鲜培养液, 再继续培养 20 h 后弃上清液, PBS 清洗 1 遍后加入 4% 甲醛, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min 固定细胞。Gly-PBS 清洗 2 遍后, PBS 清洗 3 遍。加入 3% BSA 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 封闭过夜; 1 : 100 稀释的 pS183L 多抗加入对应的细胞孔中, 设置 Flag 抗体 (1 : 200) 作为对照, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h, PBS 洗涤 3 遍, 加入 1 : 500 稀释的 Alexa Fluor 488 标记山羊抗鼠 IgG (H+L) 抗体, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min, PBS 洗涤后 DAPI 染核并封片, 置于荧光显微镜下观察。

2 结果与分析

2.1 重组蛋白 pS183L 的免疫原性分析

通过生物学软件 DNASTar 分析 pS183L 的亲疏水性和抗原性, 预测发现 pS183L 的 N 端 1~9 aa 和 C 端 169~183 aa 具有强疏水性且免疫原性差 (图 1), 因此选取 pS183L 10~168 aa 片段作为靶序列。

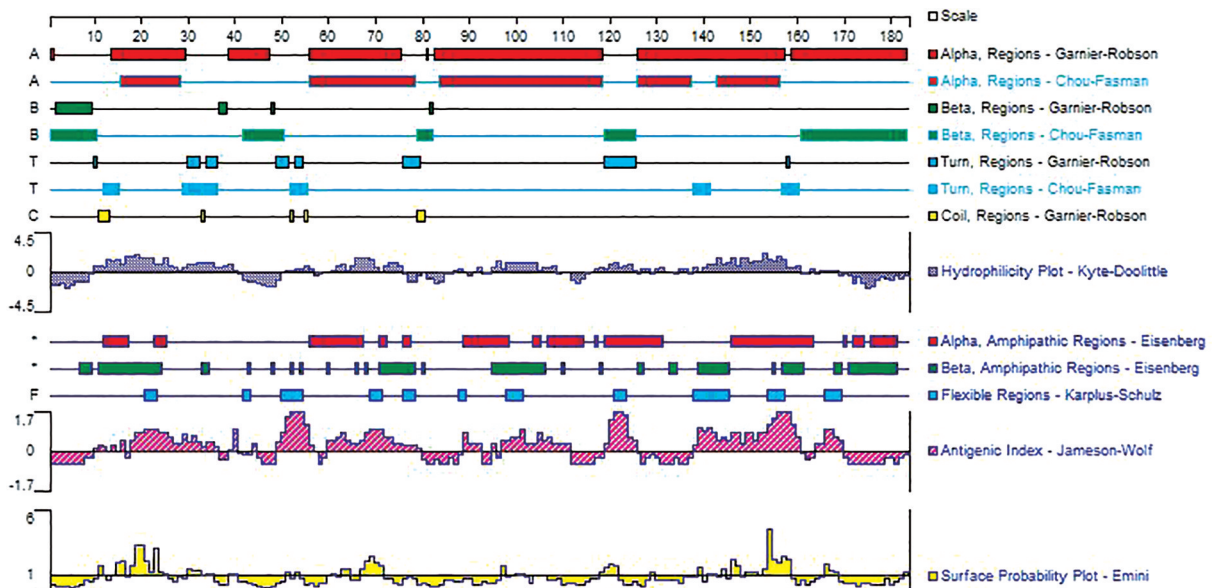
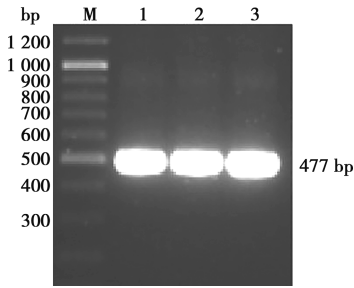


图 1 pS183L 氨基酸序列分析

2.2 pET-28a-S183L 原核表达质粒的鉴定

以 pcDNA3-2 \times Flag-S183L 质粒为模板, PCR 扩增目的片段, 并将其克隆至原核表达载体 pET-28a

中。菌落 PCR 凝胶电泳可见 477 bp 的条带, 与预期大小一致 (图 2)。

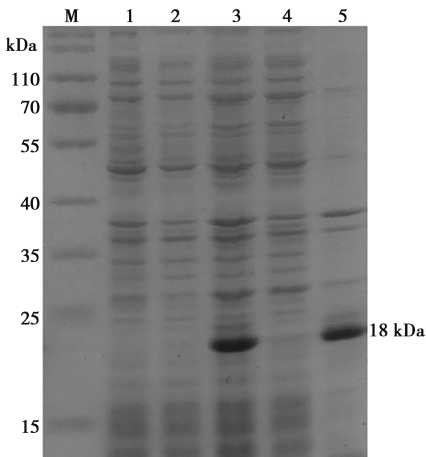


M. DNA 分子质量标准；1、2、3. pET-28a-S183L 的不同单菌落。

图2 pET-28a-S183L 重组质粒菌落 PCR 的鉴定

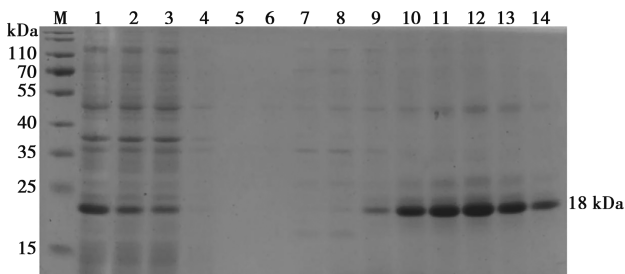
2.3 ASFV pS183L 重组蛋白的表达和纯化

取 IPTG 诱导后 6 h 菌体超声裂解并离心，沉淀用 PBS 重悬。SDS-PAGE 分析 pS183L 的可溶性。结果显示，该重组蛋白大小 18 kDa，主要表达于包涵体内（图 3）。大剂量表达蛋白，经镍柱纯化、咪唑梯度洗脱后得到纯化的目的蛋白（图 4）。



M. 蛋白质分子质量标准；1. 未诱导 pET-28a 全菌体；2. 诱导前 pET-28a-S183L 全菌体；3. 诱导后 pET-28a-S183L 全菌体；4. 诱导的 pET-28a-S183L 菌体上清液；5. 诱导的 pET-28a-S183L 菌体沉淀。

图3 ASFV pS183L 重组蛋白的 SDS-PAGE 鉴定



M. 蛋白质分子质量标准；1. 未纯化蛋白样；2~3. 未结合蛋白样；4~14. 洗脱后蛋白样，咪唑浓度分别为 0、0、20、50、100、150、200、250、300、300、500 nmol/L。

图4 ASFV pS183L 重组蛋白的纯化

2.4 多克隆抗体血清效价的测定

抗 pS183L 多克隆抗体倍比稀释至 1 : 128 000，加入到 pS183L 包被的 ELISA 板，酶标仪测定抗体效价，阴性对照为未免疫小鼠。结果显示其制备的抗 pS183L 多克隆抗体效价大于 1 : 128 000（图 5）。

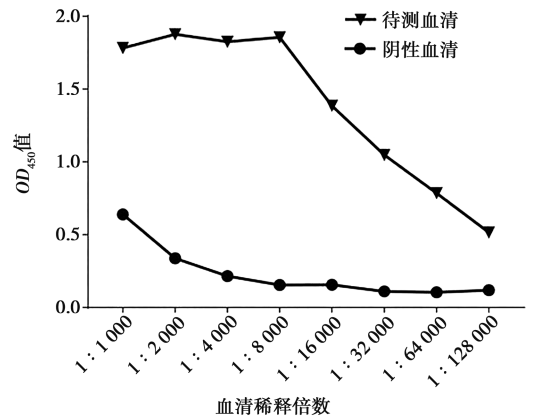
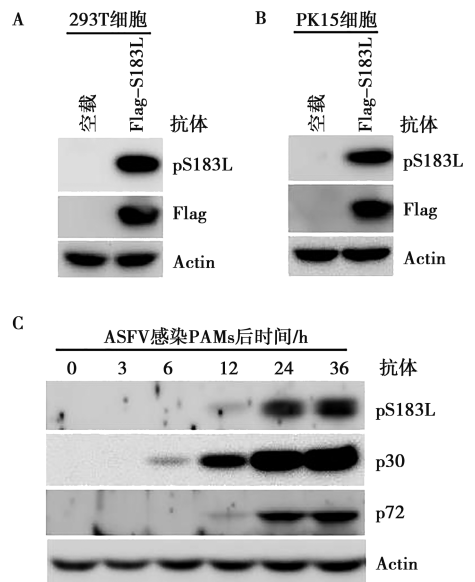


图5 多克隆抗体血清效价测定

2.5 多克隆抗体的 Western blot 鉴定

用 1 : 1 000 稀释的多克隆抗体对 293T 和 PK15 细胞过表达 pS183L 的蛋白样品和 ASFV 感染 PAMs 的不同时间点细胞样品进行鉴定。结果显示，该多克隆抗体能识别过表达 pS183L，该条带大小约 21 kDa，与阳性对照 Flag 大小一致（图 6A 和 6B）。



A. 293T 细胞中过表达 Flag-S183L 蛋白的 Western blot 鉴定；B. PK15 细胞中过表达 Flag-S183L 蛋白的 Western blot 鉴定；C. ASFV 感染 PAMs 的 Western blot 鉴定。

图6 多克隆抗体的 Western blot 鉴定

在 ASFV 不同感染时间的结果中，20 kDa 左右出现单一条带，且随着感染时间表达量有增加，符合预

期 (图 6C)。以上结果说明该多克隆抗体可以用于 pS183L 的外源和内源性 Western blot 检测。

2.6 多克隆抗体的 IFA 鉴定

用抗 pS183L 多克隆抗体 (1 : 100) 和抗 Flag (1 : 200) 单抗对 293T 细胞过表达的 pS183L 进行鉴

定。试验结果表明, 相比于对照组, 抗 pS183L 多克隆抗体组出现特异性绿色荧光, 且该定位与阳性对照 Flag 抗体组均定位于细胞质, 表明该多克隆抗体可以用于 IFA 检测 (图 7)。

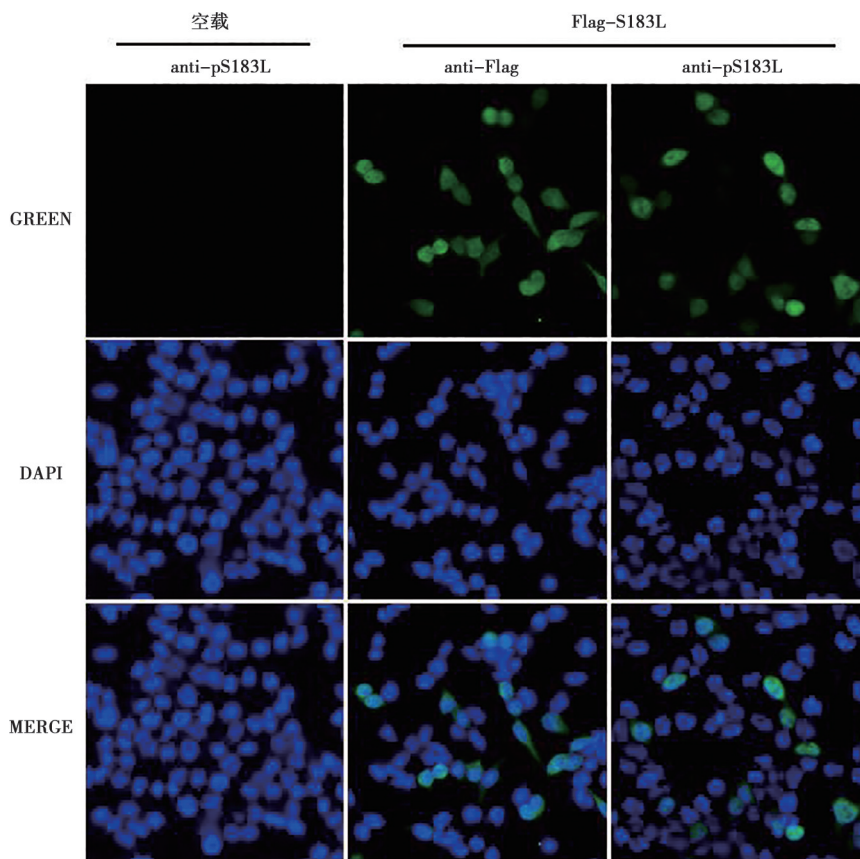


图 7 多克隆抗体的 IFA 鉴定

3 讨论

2018 年 ASFV 传入中国, 由于缺乏有效的控制措施, ASFV 在我国迅速传播。早期分离鉴定的基因 II 型毒株 ASFV - SY - 18、Pig/HLJ/2018、ASFV China/2018/Anhui XCGQ^[1,9-10] 与 Georgia/2007/1 毒株具有高度同一性, 该类型病毒潜伏期短, 致死率高, 属于强毒株^[10]。2020 年, Sun 等^[11] 分离到 22 株基因 II 型 ASFV 毒株与最早分离的高致死性毒株 Pig/HLJ/2018 相比, 均发生了自然重组、突变、插入, 表现为低毒力、持续感染。2021 年, Sun 等^[12] 在山东和河南两地分离的中等毒力毒株被鉴定为 ASFV 基因 I 型, 该毒株引起的症状与自然致弱 ASFV 基因 II 型相似, 表现为慢性持续性感染。2022 年, Zhao 等^[7] 发现高致病性 ASFV 基因 I 型和 II 型重组病毒, 该重组体毒力相关基因来源于基因 II 型病毒, 但是基于 ASFV 基因 II 型设计的减毒活疫苗不能

对该重组病毒的攻击提供保护, 自然致弱或重组 ASFV 的出现及流行给 ASF 的防控带来巨大的挑战。

pS183L 在 ASFV 感染过程中的功能不详, Song 等^[13] 通过 Gaussia 荧光素酶报告基因筛选试验, 初步发现 pS183L 能显著激活 NLRP3 介导的炎症反应。研究表明, ASFV 编码部分蛋白参与调控炎症反应, 如 pMGF505-7R 既能抑制 NF- κ B 激活, 也可与 NLRP3 相互作用抑制炎症小体的形成, 进而影响 IL-1 β 的成熟^[14]; pH240R 能与 NLRP3 相互作用抑制炎症小体的活化^[15]; pC84L 能激活半胱天冬酶 1 (Caspase-1) 促进 IL-1 β 的成熟^[16]。而 pS183L 如何参与 ASFV 感染调控炎症反应的分子机制有待进一步研究。

制备 ASFV 编码蛋白抗体是研究该蛋白功能的基础。为了制备该蛋白抗体, 本研究运用生物学软件 DNASTar 分析 pS183L 的抗原性和亲疏水性, 选取 10~168 aa 区域为靶抗原序列, 构建重组质粒 pET-

28a-S183L, 保证重组蛋白更好的免疫原性。Western blot 结果表明, 本研究制备的 pS183L 多克隆抗体能够特异性识别瞬时转染细胞中表达的 pS183L 和 ASFV 感染 PAMs 的内源性 pS183L。Zheng 等^[17] 对 ASFV 感染 PAMs 不同时间的单细胞转录组测序结果显示, pS183L 在 ASFV 感染 10 h 左右开始大量表达。与转录组学结果一致, 本研究制备的多克隆抗体在 ASFV 感染 12 h 的 PAMs 中即可识别到 pS183L 蛋白的表达, 表明该多克隆抗体识别能力较强, 后续本试验也将考虑制备单克隆抗体以获得更稳定的特异性抗体。

目前 pS183L 在 ASFV 感染中的具体功能仍不清楚, 本研究利用原核表达系统成功表达 pS183L, 并成功制备抗 pS183L 的多克隆抗体。经验证该抗体可用于 Western blot 和 IFA 试验, 为进一步研究 pS183L 蛋白功能奠定了基础。

参考文献:

[1] ZHOU X T, LI N, LUO Y Z, et al. Emergence of African swine fever in China, 2018 [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2018, 65 (6): 1482-1484.

[2] YOU S B, LIU T Y, ZHANG M, et al. African swine fever outbreaks in China led to gross domestic product and economic losses [J]. *Nat Food*, 2021, 2 (10): 802-808.

[3] LIU J L, LIU B Z, SHAN B Q, et al. Prevalence of African swine fever in China, 2018-2019 [J]. *J Med Virol*, 2020, 92 (8): 1023-1034.

[4] 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.

[5] DIXON L K, CHAPMAN D A G, NETHERTON C L, et al. African swine fever virus replication and genomics [J]. *Virus Res*, 2013, 173 (1): 3-14.

[6] DEUTSCHMANN P, FORTH J H, SEHL-EWERT J, et al. Assessment of African swine fever vaccine candidate ASFV-G-ΔMGF in a

reversion to virulence study [J]. *Npj Vaccines*, 2023, 8 (1): 78.

[7] ZHAO D M, SUN E C, HUANG L Y, et al. Highly lethal genotype I and II recombinant African swine fever viruses detected in pigs [J]. *Nat Commun*, 2023, 14 (1): 3096.

[8] TRAN X H, PHUONG L T, HUY N Q, et al. Evaluation of the safety profile of the ASFV vaccine candidate ASFV-G-ΔH177L [J]. *Viruses*, 2022, 14 (5): 896.

[9] BAO J Y, WANG Q H, LIN P, et al. Genome comparison of African swine fever virus China/2018/AnhuiXCGQ strain and related European p72 genotype II strains [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2019, 66 (3): 1167-1176.

[10] ZHAO D, LIU R, ZHANG X, et al. Replication and virulence in pigs of the first African swine fever virus isolated in China [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2019, 8 (1): 438-447.

[11] SUN E, ZHANG Z, WANG Z, et al. Emergence and prevalence of naturally occurring lower virulent African swine fever viruses in domestic pigs in China in 2020 [J]. *Sci China Life Sci*, 2021, 64 (5): 752-765.

[12] SUN E, HUANG L, ZHANG X, et al. Genotype I African swine fever viruses emerged in domestic pigs in China and caused chronic infection [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2021, 10 (1): 2183-2193.

[13] SONG J, KANG L, LI T, et al. Screening of PRRSV- and ASFV-encoded proteins involved in the inflammatory response using a porcine iGLuc reporter [J]. *J Virol Methods*, 2020, 285 (11): 113958.

[14] LI J N, SONG J, KANG L, et al. pMGF505-7R determines pathogenicity of African swine fever virus infection by inhibiting IL-1 β and type I IFN production [J]. *PLoS Pathog*, 2021, 17 (7): e1009733.

[15] ZHOU P P, DAI J W, ZHANG K H, et al. The H240R protein of African swine fever virus inhibits interleukin 1 β production by inhibiting NEMO expression and NLRP3 oligomerization [J]. *J Virol*, 2022, 96 (22): e0095422.

[16] 唐静, 马旭升, 石正旺, 等. 非洲猪瘟病毒 C84L 蛋白通过激活 NLRP3 炎症小体上调炎症因子的表达 [J]. *中国兽医科学*, 2024, 54 (1): 1-11.

[17] ZHENG Y X, LI S, LI S H, et al. Transcriptome profiling in swine macrophages infected with African swine fever virus at single-cell resolution [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119 (19): e2201288119.