

余立韬, 彭国瑞, 邹兴启, 等. 非洲猪瘟病毒蛋白质结构和功能的研究进展 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (11): 136-145.

YU L T, PENG G R, ZOU X Q, et al. Progress in research on the structure and function of African swine fever virus proteins [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (11): 136-145.

## 非洲猪瘟病毒蛋白质结构和功能的研究进展

余立韬<sup>1,2</sup>, 彭国瑞<sup>1</sup>, 邹兴启<sup>1</sup>, 关雪<sup>1</sup>, 余祖功<sup>2\*</sup>, 朱元源<sup>1\*</sup>

(1. 中国兽医药品监察所, 国家/WOAH 猪瘟参考实验室, 北京 100081;

2. 南京农业大学动物学动物医学院, 江苏 南京 210095)

**摘要:** 非洲猪瘟 (African swine fever, ASF) 是一种由非洲猪瘟病毒 (African swine fever virus, ASFV) 引起的高致病性、出血性猪传染病, 急性感染死亡率高达 100%。ASFV 是一种双链 DNA 病毒, 编码蛋白超过 150 种, 其中结构蛋白 50 多种, 非结构蛋白 100 多种。本文对近年来 ASFV 蛋白质结构和功能相关研究进行了梳理, 讨论了在病毒感染、组装、DNA 复制、宿主细胞代谢调控和免疫逃逸等过程中发挥关键作用的结构蛋白和非结构蛋白, 分析了 ASFV 蛋白质在病毒生命周期中扮演的角色和多种蛋白质之间相互作用, 以期为未来针对非洲猪瘟的预防和治疗提供参考。

**关键词:** 非洲猪瘟病毒; 结构蛋白; 非结构蛋白; 功能

**中图分类号:** S826.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2024)11-0136-10

## Progress in research on the structure and function of African swine fever virus proteins

YU Litao<sup>1,2</sup>, PENG Guorui<sup>1</sup>, ZOU Xingqi<sup>1</sup>, GUAN Xue<sup>1</sup>, YU Zugong<sup>2\*</sup>, ZHU Yuanyuan<sup>1\*</sup>

(1. China Institute of Veterinary Drug Control, National/WOAH Reference Laboratory for Classical Swine Fever, Beijing 100081, China;

2. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** African swine fever is a highly pathogenic, hemorrhagic swine disease caused by the African swine fever virus. Acute infections can lead to a mortality rate of up to 100%. ASFV is a double-stranded DNA virus that encodes over 150 proteins, of which more than 50 are structural proteins and over 100 are non-structural proteins. This article reviews recent studies on the structure and function of ASFV proteins, discussing the key roles of the structural and non-structural proteins in processes such as viral infection, assembly, DNA replication, host cell metabolic regulation, and immune evasion. The roles of the ASFV proteins in the viral life cycle and the interactions between various proteins are analyzed, which is hoped to serve as references for future prevention and treatment of African swine fever.

**Keywords:** African swine fever virus; structural protein; nonstructural protein; function

非洲猪瘟 (African swine fever, ASF) 是一种由非洲猪瘟病毒 (African swine fever virus, ASFV) 引起的高致病性、出血性猪传染病, 被世界动物卫生组织 (World Organisation for Animal Health, WOAH) 列为通报疫病, 在我国属于一类动物疫病<sup>[1]</sup>。ASF 最早于 1921 年在肯尼亚报道, 随后传播到西欧、拉

美和东欧国家, 并于 2018 年传播到中国<sup>[2]</sup>。目前, ASF 仍在广泛地传播, 给全世界的养猪业造成了难以估计的损失。接种疫苗是控制畜禽病毒性传染病的最佳措施之一, 然而, 目前除越南使用减毒活疫苗外, 多数国家尚没有批准 ASF 疫苗的广泛使用, 主要采用生物安全和扑杀的措施来防控疫情的流行。本文综述了 ASFV 主要蛋白的研究进展, 以期为研究 ASFV 蛋白的结构功能, 开发疫苗和药物提供参考。

### 1 病毒特征

ASFV 属于非洲猪瘟病毒科, 是目前唯一被发现的虫媒 DNA 病毒, 拥有复杂的双链 DNA 结构, 成熟的病毒颗粒呈对称的二十面体, 从内到外依次为类

收稿日期: 2023-11-23; 修回日期: 2024-09-06

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFC08404, 21YFD1800105)

第一作者: 余立韬, 男, 硕士研究生

\* 通信作者: 朱元源, 副研究员, 研究方向为兽医微生物与免疫学, E-mail: zhuyuanzz@163.com; 余祖功, 教授, 研究方向为新兽药注册、新兽药作用及药理学、兽药新制剂研发, E-mail: yuzugong@njau.edu.cn。

核、核芯壳、内囊膜、衣壳和外囊膜（图 1），直径为 200~300 nm<sup>[3]</sup>。病毒在宿主细胞中的增殖包括吸附、内化、脱衣壳、生物合成和组装释放等环节，单核细胞和猪肺泡巨噬细胞是 ASFV 感染的主要靶细胞<sup>[4]</sup>。病毒粒子的组装主要发生在靠近细胞核区域，被称为“病毒加工厂”的离散细胞质区域。目前认为，ASFV 的组装始于内质网膜的修饰，随后内质网膜被招募到病毒加工厂并转化为病毒前体膜，前体膜的凸面逐渐聚集成衣壳，形成二十面体的结构；同时在前体膜的凹面下方形成核壳，并在其中包装和浓缩病毒 DNA 和核蛋白，最终形成具有完整外囊层和内部含有病毒遗传物质的类核的成熟 ASFV 粒子<sup>[5]</sup>。

根据编码 p72 蛋白的 B646L 基因的核苷酸序列，ASFV 被分类为 24 种基因型<sup>[6]</sup>。ASFV 的基因组在 170~194 kb 范围，约 150~167 个开放阅读框（open reading frames, ORFs），编码大约 150~200 种蛋白

质。其中结构蛋白 50 多种（表 1），是病毒颗粒的主要组分；非结构蛋白 100 多种（表 2），涉及病毒的核苷酸代谢、DNA 复制、转录、蛋白质修饰、与宿主细胞的交互作用以及免疫逃避等多个过程<sup>[7]</sup>。

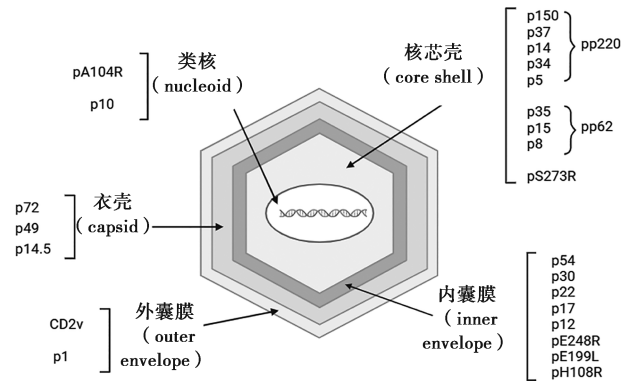


图 1 ASFV 结构及功能蛋白分布示意

表 1 非洲猪瘟病毒编码的主要结构蛋白

| 蛋白定位 | 蛋白名称           | 开放阅读框   | 主要功能   |
|------|----------------|---------|--|
| 类核   | p10            | K78R    | 与病毒 DNA 结合                                   |
|      | pA104R         | A104R   | 与病毒 DNA 结合，参与 DNA 的复制                        |
| 核芯壳  | pp220          | CP2475L | 构成病毒核芯壳的多聚蛋白前体，可水解为 p150、p37、p14、p34 和 p5 蛋白 |
|      | pp62           | CP530R  | 构成病毒核芯壳的多聚蛋白前体，可水解为 p35、p15 和 p8 蛋白          |
|      | pS273R         | S273R   | 水解 pp220 和 pp62 蛋白                           |
| 内囊膜  | p54            | E183L   | 与动力蛋白轻链相互作用，参与病毒侵入，诱导细胞凋亡                    |
|      | p30            | CP204L  | 重要抗原蛋白，参与病毒入侵                                |
|      | p22            | KP177R  | 参与基因复制、调控毒力                                  |
|      | p17            | D117L   | 使衣壳紧密固定在内囊膜，维持病毒二十面体结构和活力                    |
|      | p12            | O61R    | 参与病毒吸附过程                                     |
|      | pE248R         | E248R   | 参与病毒入侵，增强感染力                                 |
|      | pE199L         | E199L   | 参与病毒入侵，增强感染力；诱导细胞凋亡                          |
|      | pH108R         | H108R   | 参与病毒的吸附过程                                    |
| 衣壳   | p72            | B646L   | 主要的衣壳蛋白，参与病毒吸附、侵入                            |
|      | p49            | B438L   | 病毒粒子感染性所必需结构蛋白                               |
|      | p14.5          | E120R   | 参与病毒的传播和运输                                   |
| 外囊膜  | CD2v (pEP402R) | EP402R  | 参与多种细胞功能调节，如囊泡转运和信号转导、体内扩散                   |
|      | p12            | O61R    | 参与病毒吸附过程                                     |

表 2 非洲猪瘟病毒编码的主要非结构蛋白

| 蛋白名称    | 开放阅读框  | 主要功能                      |
|---------|--------|---------------------------|
| pP1192R | P1192R | 维持 DNA 的正常拓扑结构            |
| pC962R  | pC962R | 参与 DNA 复制的启动并改变 DNA 复制的模式 |
| pF1055L | F1055L |                           |
| pG1211R | G1211R | 参与 DNA 的复制                |
| pE301R  | E301R  |                           |

续表2

| 蛋白名称     | 开放阅读框   | 主要功能  |
|----------|---------|---|
| pE165R   | E165R   | 病毒 DNA 复制提供所需的 dNTP 和能量                         |
| pK196R   | K196R   |   |
| pA240L   | A240L   |   |
| pF134L   | F134L   |   |
| pF778R   | F778R   |   |
| pE248R   | E248R   |   |
| pNP419L  | NP419L  |   |
| pO174L   | O174L   |   |
| pE296R   | E296R   |   |
| pNP868R  | NP868R  | 底物识别和催化作用; 参与的 mRNA 5'端加帽过程                     |
| g5R      | D250R   | 参与 mRNA 帽结构的剪切、水解以及 mRNA 降解的过程                  |
| RP1      | NP1450L | 参与基因的转录和 mRNA 的加工                               |
| RP2      | EP1242L |   |
| RP3      | H359L   |   |
| RP5      | D205R   |   |
| RP6      | C147L   |   |
| RP7      | D339L   |   |
| pB263R   | B263R   |   |
| pI243L   | I243L   | 从不同位点启动转录                                       |
| pC315R   | C315R   | 与 RNA 聚合酶协同作用, 形成转录启动复合物                        |
| pA859L   | A859L   | 参与 ASFV 的基因转录                                   |
| pF105L   | F105L   |   |
| pB92L    | B92L    |   |
| pD1133L  | D1133L  |   |
| pQ706L   | Q706L   |   |
| pQP509L  | QP509L  |   |
| pC475L   | C475L   |   |
| pEP424R  | EP424R  | 调控宿主细胞中的蛋白质合成过程; 与病毒毒力相关                        |
| pDP71L   | DP71L   |   |
| pA238L   | A238L   | 调控宿主细胞蛋白表达系统和细胞因子转录                             |
| I2L 蛋白   | MGF360  | 抑制 IFN- $\beta$ 、NF- $\kappa$ B 的 mRNA 转录及启动子活性 |
| pA276R   | MGF360  | 抑制干扰素调节因子 IRF3 的磷酸化                             |
| pA528R   | MGF505  | 抑制 IFN 表达及 JAK-STAT 通路                          |
| I329L 蛋白 | I329L   | 抑制 TLR3 介导的固有免疫过程和干扰素的产生                        |
| pA179L   | A179L   | 调控细胞程序性死亡的蛋白                                    |
| pA224L   | A224L   |   |
| pEP153R  | EP153R  |   |
| L83L 蛋白  | L83L    | 调节炎症因子活性  |

## 2 ASFV 的结构蛋白

### 2.1 核芯壳蛋白

ASFV 基因表达的一个显著特征是在病毒感染的

晚期合成多聚蛋白前体 pp220 和 pp62, 分别由 CP2475L 和 CP530R 基因编码, 并被病毒半胱氨酸蛋白酶 pS273R 加工处理, 水解为成熟的病毒蛋白, 组装到核芯壳中<sup>[8]</sup>。

pp220 分子质量为 281.5 kDa, 在 pS273R 作用下产生成熟病毒蛋白 p150、p37、p34、p14 和 p5。pp62 分子质量为 60.5 kDa, 被 pS273R 酶解产生成熟病毒蛋白 p15、p35 和 p8<sup>[9]</sup>。p150、p37、p14、p34、p35 和 p15 在病毒核壳的装配过程中起关键作用, 它们约占病毒蛋白质总量的 30%, 是病毒粒子核壳的主要组分, 也是病毒粒子成熟的重要标志<sup>[10]</sup>。而 p5 和 p8 是近年来通过蛋白质组学分析技术检测出来的, 功能尚不清楚<sup>[9]</sup>。Andres 等<sup>[8]</sup>通过脉冲追踪试验表明, pp220 和 pp62 的水解与病毒粒子的组装是同时进行的。pp220 和 pp62 的处理依赖于 p72 的表达, 而 pp62 的处理也需要 pp220 的表达。p72 表达被阻断时, 未加工的 pp220 和 pp62 形成异常的拉链状结构, pp220 和 pp62 蛋白的水解受阻时, 组装的病毒粒子失去感染性。

p37 是 ASFV 编码的第一个核质穿梭蛋白, 在感染早期时存在于不同的细胞核区域, 而感染后期时只存在于细胞质<sup>[11]</sup>。p14 也是核质穿梭蛋白, 但与 p37 不同的是, 它只进入细胞核而不输出到细胞质<sup>[2]</sup>。p37 和 p14 与病毒 DNA 相互作用, 形成复合物, 将病毒 DNA 运输到细胞核内, 启动 DNA 复制<sup>[12]</sup>。p14 的特异性抗体通过与补体系统和效应细胞的相互作用, 协助免疫系统破坏和清除被 ASFV 感染的细胞。p34 和 p150 蛋白参与病毒基质结构的组装。

p15 蛋白分子量约 17.9 kDa, 以三聚体的形式存在, 其中每个 p15 分子通过第 9 个半胱氨酸 (Cys 9) 与另一个 p15 分子的 Cys 30 形成二硫键, 这种结构使 p15 蛋白对单链 DNA 的结合能力更强, 而与双链 DNA 的结合相对较弱。在这二级结构上, 每个 p15 分子包含 4 个  $\alpha$ -螺旋和 6 个反平行  $\beta$ -折叠。此外, 第 10 个赖氨酸 (Lys10) 和 Lys39 这两个氨基酸残基对 p15 蛋白的核酸结合能力起着至关重要的作用<sup>[13]</sup>。p35 蛋白展示出一种新的折叠结构, 由两个螺旋束组成, 包括 1 个较大的“头结构域”和 1 个较小的“尾结构域”, 通过 1 个带有大量正电荷的区域, 与囊内膜结合, 而包含负电荷的区域则促进多种结构蛋白与其他区域的相互作用, 进一步促进病毒核壳与囊内膜的结合<sup>[14-15]</sup>。

pS273R 是一种特异性类泛素蛋白修饰分子 (small ubiquitin-like modifier, SUMO) 半胱氨酸蛋白酶, 识别 Gly-Gly-X 的序列模式 (X 通常是一个带有疏水侧链的氨基酸残基), 并在第二个 Gly 残基之后切割多肽链<sup>[16]</sup>。它的结构主要由“核心结构域”和 N-末端的“臂结构域”组成。“核心结构域”含有 N84 到 A273 的残基, 和衣原体去泛素化酶、腺病毒蛋白酶具有高度的结构相似性; “臂结构域”包含

从 M1 到 N83 的残基, 是 ASFV 所特有的, 对于酶活性的维持起重要作用。由于 pS273R 在多聚蛋白前体的处理和病毒粒子的成熟中起着关键作用, 因此它被认为是针对 ASF 治疗的潜在药物靶点<sup>[16-17]</sup>。

## 2.2 囊膜蛋白

ASFV 借助胞吞进入靶细胞, 通过囊膜和内吞体膜的融合将病毒释放到细胞内。ASFV 的囊膜结构包括外囊膜和内囊膜, 囊膜蛋白是主要的结构蛋白和表面抗原, 与细胞嗜性、免疫性和致病性相关。已知功能的 ASFV 囊膜蛋白主要有 CD2v、p12、p54、p30 等。其中, p12 既存在于外囊膜, 也是内囊膜的组分<sup>[18-19]</sup>。

CD2v 由 EP402R 基因编码, 其结构类似于 T 淋巴细胞表面的黏附受体 CD2, 分子质量为 41 kDa<sup>[20]</sup>, 是 ASFV 的特征性病毒蛋白<sup>[21]</sup>。该蛋白由 N 端信号肽, 跨膜区、两个免疫球蛋白样结构域 (immunoglobulin-like domain) 和 C 端胞内结构域构成。C 端胞内结构域包括 1 个酸性结构域和 1 个富含脯氨酸的重复序列, 与肌动蛋白结合衔接蛋白 SH3P7 相互作用, 调节囊泡转运、信号转导等过程<sup>[22]</sup>。CD2v 能够与红细胞的表面结合, 导致红细胞吸附于被感染的细胞表面。使用缺失 EP402R 基因的毒株后, 红细胞吸附现象消失, 病毒的传播速度减缓<sup>[23]</sup>, 说明 CD2v 介导的红细胞吸附现象有利于病毒在体内扩散。此外, CD2v 还可以抑制淋巴细胞的增殖<sup>[24]</sup>。总的来说, 在 ASFV 整个感染过程中, CD2v 蛋白发挥多重作用, 包括增强病毒的感染能力、参与囊泡转运和信号转导、调节免疫应答反应。

p54 是由 E183L 基因编码的跨膜蛋白, 位于内囊膜, 分子质量为 20 kDa<sup>[20]</sup>, 在入侵过程中发挥重要作用。该蛋白包含 1 跨膜结构域和 1 个 Gly-Gly-X 序列, 以及 1 个多种结构蛋白的加工识别序列<sup>[25]</sup>。细胞质动力蛋白的轻链 LC8 亚基是负端定向的微管相关运动蛋白, p54 通过靠近 C 端的 13 个氨基酸片段与 LC8 结合, 形成 p54-LC8 复合物, 使病毒沿着微管在细胞质内运输<sup>[26]</sup>。p54-LC8 复合物能够与抗凋亡蛋白 Bcl-2 结合, 削弱 Bcl-2 对细胞凋亡的抑制作用, 使 Caspase-9 和 Caspase-3 活化, 诱导细胞凋亡<sup>[27]</sup>。p54 可诱导机体产生特异性抗体, 因此 p54 也被用于 ASFV 的血清学诊断<sup>[20]</sup>。此外, p54 抗体还可以抑制 ASFV 的吸附<sup>[28]</sup>。

p30 是由 CP204L 基因编码的早期膜蛋白, 分子量约 23.6 kDa<sup>[21]</sup>。p30 的作用与 p54 相似, 与 ASFV 侵入宿主细胞紧密相关<sup>[10]</sup>。当 ASFV 感染细胞后, p30 蛋白在 2~4 h 内出现, 并在感染周期内持续表达, 因此, 它被视为 ASFV 感染的早期标志<sup>[29]</sup>。目

前, p30 已经被广泛应用于 ASFV 的血清学检测, 并且该蛋白能够诱导机体发生快速且强烈的免疫应答反应<sup>[20]</sup>, 有希望作为免疫抗原应用于 ASF 的疫苗研发。

pE248R 是由 E248R 基因编码的一个跨膜蛋白, 位于病毒的内囊膜上, 分子量约 27.4 kDa<sup>[20]</sup>, 在病毒入侵靶细胞以及膜融合过程中发挥重要作用<sup>[30]</sup>。ASFV 粒子在通过细胞质空泡膜的过程中发生膜融合, 并随后将 ASFV 传递到细胞质核心区域中, 若缺少 pE248R 会导致病毒进入宿主细胞之后被困在类似溶酶体的结构中<sup>[2]</sup>。pE248R 含有分子内二硫键, 1 个豆蔻酰化位点以及靠近其 C-末端的 1 个疏水性跨膜区域, 在氨基酸序列上与痘苗病毒的 L1 蛋白具有高度相似性。L1 蛋白是痘苗病毒的侵入/融合复合体 (entry/Fusion complex, EFC) 的重要组成部分。Rodríguez 等<sup>[31]</sup>研究发现, pE248R 缺陷的 ASFV 粒子仍然可以正常的组装并释放, 但感染能力至少下降了 100 倍。

pE199L 是由 E199L 基因编码的晚期膜蛋白, 分子量约 22.7 kDa, 其氨基酸序列高度保守。它的结构包括 1 个富含半胱氨酸的 N-末端区域, 1 个跨膜结构域, 以及 1 个 C-末端尾部<sup>[21]</sup>。在 ASFV 感染宿主细胞的过程中, pE199L 发挥出与 pE248R 相似的作用。pE199L 缺陷型病毒体无法完成膜融合并将其核心释放到细胞质中, 感染性几乎消失<sup>[32]</sup>, 这表明 pE248R 和 pE199L 共同组成的融合机制执行类似痘苗病毒 EFC 的职能, 对于病毒进入宿主细胞至关重要。此外, 最近的研究还发现 pE199L 能通过线粒体依赖性细胞凋亡途径诱导细胞死亡<sup>[33]</sup>。这些功能使 pE199L 蛋白在开发针对 ASF 的亚单位疫苗方面具有重要意义。

p22 是由 KP177R 基因编码的早期结构蛋白, 位于 ASFV 粒子的内囊膜和感染细胞的表面, 分子量约 20.7 kDa。p22 蛋白可与宿主细胞内一系列蛋白质和分子相互作用, 这些蛋白质和分子参与不同的细胞通路, 包括内吞作用、cGMP 依赖的蛋白激酶 (cGMP-PKG) 信号通路、cAMP 信号通路和 AMP 活化的蛋白激酶 (AMPK) 信号通路<sup>[34]</sup>。一般认为 p22 的功能主要是参与基因复制、调控毒力<sup>[20]</sup>。但根据 Vuono 等<sup>[35]</sup>的研究, 从 ASFV 基因组中敲除 KP177R 基因, 既不会显著改变 ASFV 在体外的复制能力, 也不会影响 ASFV 在猪体内的感染和毒力。这表明 p22 蛋白可能不参与 ASFV 的核心功能。

p17 是由 D117L 基因编码的晚期膜蛋白, 分子量约 13.1 kDa<sup>[20]</sup>。该蛋白是 ASFV 前体膜形成二十面体结构的中间体, 确保衣壳紧密地固定在内膜上, 从而形成完整的二十面体病毒粒子。p17 表达受阻时,

pp220 和 pp62 的水解被阻断, ASFV 核芯壳不能正常组装<sup>[5, 7]</sup>。p17 还能抑制宿主细胞增殖, 使细胞的分裂停滞在 G2/M 期; 此外, 它还能够诱导细胞产生氧化应激反应, 并增加细胞内活性氧水平<sup>[36]</sup>。

pH108R 是由 H108R 基因编码的晚期膜蛋白, 也被称为 J5R 蛋白, 分子量约 12.5 kDa<sup>[9]</sup>。该蛋白由 111 个氨基酸组成, N-末端包含跨膜结构域, 参与免疫反应, 对 ASFV 的复制和形态发生具有重要作用<sup>[37-38]</sup>。p12 由 O61R 基因编码, 分子质量约 6.7 kDa, 参与 ASFV 的吸附过程<sup>[39]</sup>。该蛋白能与靶细胞的膜蛋白结合, 在自然感染或接种重组蛋白 p12 的动物中诱导特异性抗体。但 p12 抗体不抑制病毒与宿主细胞的结合, 也不降低病毒的感染性<sup>[7]</sup>。

### 2.3 衣壳蛋白

ASFV 的衣壳包括 1 个主要衣壳蛋白 (p72) 和 4 个次要衣壳蛋白 (pM1249L, p17, p49 和 pH240R)<sup>[40]</sup>, 能保护 ASFV 核酸不受外界中核酸酶或其他理化因素破坏, 并参与 ASFV 感染靶细胞过程。此外 p14.5 在衣壳的形成中也起到重要作用<sup>[7]</sup>。p72 是由 B646L 基因编码糖基化蛋白, 分子量约 73.2 kDa, 免疫原性强, 约占病毒颗粒总重量的 32%<sup>[15]</sup>。该蛋白是一种同源三聚体, 每个亚基都采用双果冻卷 (Jelly-Roll, JR) 结构, 构成伪六聚体衣壳粒。这种双果冻卷结构在许多其他病毒衣壳蛋白中也可以找到, 包括腺病毒、噬菌体 PRD1 和痘苗病毒。p72 蛋白的每个亚基都有 4 个插入区域, 分别位于 D<sub>1</sub>E<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>E<sub>2</sub>、F<sub>1</sub>G<sub>1</sub> 和 H<sub>1</sub>I<sub>1</sub> 环中, 形成暴露区域。这些暴露区域与 N-末端结构域共同决定了病毒类型的特异性差异<sup>[3, 41]</sup>, 可能构成了中和表位。针对每个区域制备的单克隆抗体可用于 ASFV 的检测, 也有希望应用于疫苗研发。当 p72 的表达受到限制时, pp220 和 pp62 的水解受到明显的抑制, ASFV 失去感染性<sup>[8, 42]</sup>。此外, Keita 等<sup>[43]</sup>使用靶向 B646L 基因的小干扰 RNA (small interference RNA, siRNA) 使 ASFV 的体外复制受到显著抑制, 说明 p72 在 ASFV 复制周期中发挥重要作用。

p49 由 B438L 基因编码, 属于 ASFV 感染晚期表达的蛋白, 分子量约 49.6 kDa, 是衣壳顶点形成所必需的蛋白<sup>[9]</sup>。Epifano 等<sup>[44]</sup>的研究表明, 在缺乏该蛋白的情况下, 组装的 ASFV 粒子不是二十面体对称结构, 而是异常的管状结构。在病毒感染期间, p49 与细胞膜结合, 表现为完整的膜蛋白<sup>[7]</sup>。

p14.5 是在 ASFV 感染后期表达的衣壳蛋白, 由 E120R 基因编码。该蛋白以几种形式存在, 在细胞质中时, 分子量为 14.5~22 kDa, 而包含在 ASFV 颗粒中时分子量为 12~25 kDa, 这种大小的多样性可能

是 N-末端的丙氨酸残基处经过乙酰化和磷酸化两种翻译后修饰导致的<sup>[39]</sup>。Andres 等<sup>[45]</sup>的研究表明,与正常情况相比,抑制 p14.5 表达的条件下,细胞内的病毒滴度几乎不变,而细胞外的病毒滴度显著下降,说明 p14.5 对 ASFV 的传播是必需的,但对 ASFV 的感染性不是必需的。此外, p14.5 还参与了微管介导的病毒颗粒从病毒加工厂转运到细胞质膜的过程<sup>[45]</sup>。

## 2.4 DNA 结合蛋白

pA104R 和 p10 是 ASFV 复制过程中重要的 DNA 结合蛋白。pA104R 由 A104R 基因编码,分子量约 11.6 kDa<sup>[20]</sup>。它的总体结构与细菌的 HU/IHF 同源物非常相似,是具有  $\alpha$  螺旋区 ( $\alpha$ -helical region, AHR) 和  $\beta$  链 DNA 结合区 ( $\beta$ -strand DNA binding region, BDR) 2 个结构域的同源二聚体。二聚体的原聚体二级结构由 2 个  $\alpha$ -螺旋 ( $\alpha$ 1 和  $\alpha$ 2) 元件,和 5 个  $\beta$ -折叠 ( $\beta$ 1-5) 元件组成,  $\beta$ 1、 $\beta$ 2 和  $\beta$ 5 链形成反平行的  $\beta$  折叠,其构成 BDR 的底部,而  $\beta$ 3 和  $\beta$ 4 链构成 BDR 的臂。带正电荷的氨基酸密集分布在 BDR,作为带负电荷的 DNA 骨架的潜在结合位点<sup>[1]</sup>。Frouco 等<sup>[46]</sup>将 A104R 基因敲除后,发现子代病毒数量、病毒基因组拷贝数和晚期病毒基因转录均下降。

p10 是由 K78R 基因编码的 DNA 结合蛋白,分子量约 8.4 kDa,属于 ASFV 感染晚期表达的蛋白<sup>[47]</sup>。p10 蛋白的 C 末端富含赖氨酸残基, N 末端富含丝氨酸残基,这种结构对于与双链 DNA 的相互作用至关重要。此外,在 ASFV 感染的细胞中, p10 蛋白在感染后期的细胞核中积累,表明在 ASFV 复制后期, p10 在细胞核中可能发挥重要作用<sup>[2]</sup>。

## 3 ASFV 的非结构蛋白

### 3.1 参与病毒 DNA 复制的非结构蛋白

ASFV 具有一套与宿主无关的复制和转录机制,但其翻译过程依赖于宿主细胞,基因组的复制和转录依赖于 ASFV 基因组编码的许多相关蛋白<sup>[48]</sup>。ASFV 可以调节细胞周期,使宿主细胞从 G0 期进展到 S 期,然后在 G2 期阻滞这些细胞,以满足自身的复制需求<sup>[49]</sup>。在感染后约 6 h, ASFV 的 DNA 开始在病毒加工厂中复制,所需的酶在 ASFV 入侵细胞质后立即开始表达<sup>[50]</sup>。

pP1192R 是由 P1192R 基因编码的 II 型 DNA 拓扑异构酶,分子量约 135.5 kDa<sup>[9]</sup>。感染中后期时, pP1192R 在猪巨噬细胞的细胞质中表达,并转运到病毒加工厂,参与 ASFV 的复制。pP1192R 能够有效地解离动基体 DNA (kinetoplast DNA),并松弛 DNA 的超螺旋结构,解决 DNA 中的结节、缠结等结构问题,

缓解 pA104R 与 DNA 结合产生的拓扑张力,维持 DNA 的正常拓扑结构<sup>[2, 7, 51]</sup>。Freitas 等<sup>[52]</sup>使用靶向 P1192R 基因的 siRNA 抑制该蛋白表达,结果显示,细胞病变效应、感染细胞数量和病毒后代滴度明显降低。

pC962R 是由 C962R 基因编码的 DNA 引物酶,分子量约 111.3 kDa<sup>[50]</sup>。Duan 等<sup>[7]</sup>认为该蛋白类似于痘苗病毒 D5 蛋白的核苷酸三磷酸酶 (nucleoside triphosphatase, NTPase),在 DNA 复制的启动中发挥重要作用并改变 DNA 复制的模式。pF1055L 蛋白的结构与疱疹病毒 UL-9 蛋白相似,分子量约 123.9 kDa。UL-9 蛋白能够与 DNA 复制的起始点结合,帮助病毒确定复制的起点, pF1055L 可能发挥了类似的作用。此外,分别由 G1211R、E301R 基因编码的 DNA 聚合酶 B (pG1211R)、PCNA 类蛋白 (pE301R) 也参与了 DNA 复制的启动<sup>[50]</sup>。

在 ASFV 复制的过程中,病毒还编码了尿嘧啶脱氧核糖核苷三磷酸酶 (pE165R)、胸苷酸激酶 (pK196R)、胸苷嘧啶激酶 (pA240L) 和 2 个核苷酸还原酶亚基 (pF134L, pF778R),参与核苷酸代谢,为病毒 DNA 复制提供所需的 dNTP 和能量<sup>[50]</sup>。pE165R 蛋白是 E165R 基因编码的一种核苷酸水解酶,属于 ASFV 感染早期表达的蛋白,位于宿主细胞的细胞质中。该蛋白可以减少尿嘧啶与病毒 DNA 的错误结合,在低 dUTP 浓度下维持 ASFV 基因组复制的保真性<sup>[53]</sup>。通常认为 pE165R 对于 ASFV 在猪巨噬细胞中的复制起到关键作用,但 Vuono 等<sup>[54]</sup>发现敲除 E165R 的 ASFV 复制效率与亲本病毒几乎没有区别。

ASFV 还拥有 DNA 修复系统。巨噬细胞中含有丰富的自由基 (如氧自由基),这些自由基会对 ASFV 的基因组造成损害,包括 DNA 链断裂、碱基丢失等。为了克服这些 DNA 损伤, ASFV 进化出碱基切除修复 (base excision repair, BER) 系统。该系统由特定的酶组成,包括 ASFV 编码的 ATP 依赖型 DNA 连接酶 (pNP419L)、X 型 DNA 聚合酶 (pO174L) 和 II 类脱嘌呤/脱嘧啶核酸内切酶 (pE296R)<sup>[50, 55-56]</sup>。

### 3.2 参与基因转录、RNA 修饰的非结构蛋白

目前认为, ASFV 编码的所有蛋白中,大约有 19% 参与基因转录和 RNA 修饰<sup>[9]</sup>。ASFV 的基因转录调控主要依赖病毒本身所编码的一系列酶和转录因子,以及分子交互作用<sup>[57]</sup>。

pNP868R 是由 NP868R 基因编码的鸟苷酸转移酶,分子量约 29.9 kDa<sup>[50]</sup>,由 1 个 N-末端的三磷酸酶 (TPase) 结构域、1 个中央的鸟苷酸转移酶

(GTase) 结构域和 1 个 C-末端的甲基转移酶 (MTase) 结构域构成<sup>[58]</sup>。其中, MTase 结构域展现了典型的 S-腺苷甲硫氨酸依赖性 MTase I 类家族的核心折叠结构 (图 3), 这个结构包括 7 个  $\beta$ -折叠 ( $\beta_4$ 、 $\beta_3$ 、 $\alpha_2$ 、 $\beta_5$ 、 $\beta_6$ 、 $\beta_{12}$  和  $\beta_{11}$ ) 和 6 个  $\alpha$ -螺旋 ( $\alpha_1$ 、 $\alpha_2$ 、 $\alpha_3$ 、 $\alpha_4$ 、 $\alpha_5$  和  $\alpha_7$ )。此外, MTase 结构域还有 1 个 N-末端延伸的  $\beta$ -折叠 ( $\beta_1$ )、1 个 9 个氨基酸残基组成的  $\beta_1$ - $\alpha_1$  环, 以及在  $\beta_6$  和  $\alpha_7$  之间的 1 个瓣状结构域, 该结构域包含 1 个由 4 个反平行的  $\beta$ -折叠 ( $\beta_7$ 、 $\beta_8$ 、 $\beta_9$  和  $\beta_{10}$ ), 且被 4 个额外的  $\alpha$ -螺旋 ( $\alpha_6$ 、 $\alpha_8$ 、 $\alpha_9$  和  $\alpha_{10}$ ) 包围。N-末端延伸还包含特定的残基 (R592 和 R597), 可在底物结合时接近活性位点, 在底物的识别和结合中起到关键作用。此外, pNP868R 还在 mRNA 的 5' 端加帽过程中扮演重要角色。首先, 前体 mRNA 的 5'-三磷酸端被 RNA 5'-三磷酸酶水解为二磷酸, 然后 RNA 鸟苷酸转移酶将 GMP 加在二磷酸 RNA 上, 形成 GpppRNA 帽结构, 最后, RNA 鸟嘌呤-N7 甲基转移酶将 GpppRNA 帽结构转化为 7-甲基鸟嘌呤 RNA 帽 (m7GpppRNA)<sup>[2, 59]</sup>。

g5R 蛋白是由 D250R 基因编码的二磷酸核苷酸水解酶, 分子量约 29.9 kDa, 在 ASFV 感染早期表达, 与 mRNA 帽结构共定位。该蛋白是 ASFV 唯一的 mRNA 脱帽酶, 参与 mRNA 帽结构的剪切、水解以及 mRNA 降解的过程, 并调节 ASFV 基因的转录<sup>[7, 50]</sup>。g5R 蛋白的结构是 1 个稳定的对称二聚体, 该二聚体的原聚体由 1 个独特的 N-末端螺旋结构域和 1 个 C-末端的 Nudix 结构域组成。螺旋结构域由 6 个  $\alpha$ -螺旋 ( $\alpha_1$  到  $\alpha_6$ ) 组成, 形成类似血红蛋白的结构, 通过 2 个铰链连接到 Nudix 结构域。Nudix 结构域由 1 个中央弯曲的  $\beta$ -折叠 ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ,  $\beta_4$ ) 和周围的 5 个  $\alpha$ -螺旋 ( $\alpha_7$  到  $\alpha_{11}$ ) 组成, 形成经典的  $\alpha$ - $\beta$ - $\alpha$  三明治结构。螺旋结构域是 g5R 蛋白与 RNA 相互作用的中介, 其带正电的区域可能有助于 g5R 蛋白与 RNA 的结合。Nudix 结构域与 RNA 相互作用, 并且 g5Rp 蛋白的 C-末端在与 RNA 的结合步骤中表现出底物选择性。在与宿主细胞的 RNA 结合后, g5R 蛋白切割掉依赖于 Nudix 基序的 RNA 上的 mRNA 5'帽<sup>[2, 60]</sup>。

到目前为止, 已经发现的 ASFV 自身编码的 RNA 聚合酶亚基主要包括 pNP1450L (RP1), pEP1242L (RP2), pH359L (RP3), pD205R (RP5), pC147L (RP6), pD339L (RP7) 和 pCP80R (RP10), 这些蛋白质是 ASFV 基因转录的核心组成部分, 与宿主细胞 RNA 聚合酶的 7 个亚基同源<sup>[61]</sup>。在转录过程中发挥重要作用的还有 pB263R 蛋白、转录因子 TFIIIS

(pI243L) 和类转录因子 TFIIIB (pC315R)。pB263R 具有 TATA 结合蛋白的特征, 与 DNA 上的特定序列结合, 从而在基因的启动区域定位 RNA 聚合酶并启动基因的转录。pI243L 能够从不同位点启动转录, 从而产生早期、中期和晚期 mRNA, 其中早期 mRNA 水平相对较低, 晚期 mRNA 水平较高。pC315R 与 RNA 聚合酶协同作用, 形成转录启动复合物, 从而启动 ASFV 基因的转录过程<sup>[7, 62]</sup>。

ASFV 还编码了 6 种解旋酶, 分别为 pA859L、pF105L、pB92L、pD1133L (g10L)、pQ706L (j10L) 和 pQP509L (j11L)<sup>[63]</sup>。其中, pD1133L、pQ706L 和 pQP509L 参与 ASFV 的基因转录, pD1133L 和 pQ706L 与痘苗病毒的 D11L 蛋白具有高度同源性。ASFV 基因 D1133L 和 B962L 位于 ASFV 基因组的中央区域, 在病毒 DNA 复制启动后, 这 2 个基因可以在 Vero 细胞中表达<sup>[64]</sup>。此外, ASFV 编码的多聚腺苷聚合酶 (pC475L) 和甲基转移酶 (pEP424R) 也参与了 mRNA 的加工过程<sup>[50]</sup>。

### 3.3 参与免疫逃逸的非结构蛋白

根据不同的功能, 可将参与免疫逃逸的非结构蛋白划分为以下几个类型: 第一类是调控宿主细胞蛋白表达系统和细胞因子转录的蛋白, 如 pDP71L 和 pA238L; 第二类是能够抑制 I 型干扰素信号通路的蛋白, 例如 MGF360、MGF505/530 和 I329L 等多基因家族编码的蛋白; 第三类是调控细胞程序性死亡的蛋白, 包括 pA179L、pA224L 和 pEP153R 等; 第四类是其他的免疫抑制蛋白, 如 L83L 蛋白<sup>[65]</sup>。

ASFV 可以利用细胞中的真核起始因子 (eukaryotic initiation factor, eIF), 包括 eIF2、eIF4F、eIF4G 和 eIF4E, 来完成其蛋白质的合成<sup>[66]</sup>。eIF2 $\alpha$  是蛋白质合成调控的关键和限速步骤, eIF2 $\alpha$  的磷酸化状态直接影响细胞中的蛋白质合成水平。而 pDP71L 可以跟蛋白磷酸酶 1 结合, 降低 eIF2 $\alpha$  的磷酸化水平, 从而调控宿主细胞中的蛋白质合成过程, 以满足 ASFV 蛋白质的合成需求, 降低宿主细胞对 ASFV 的抵抗力<sup>[67]</sup>。此外, pDP71L 还通过抑制特定的信号转导通路影响细胞的生存状态。大量病毒蛋白表达会导致内质网应激, 激活 PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP 信号通路, 诱导细胞凋亡, 而 pDP71L 抑制了 ATF4 和其下游靶点 CHOP 的表达, 阻碍细胞凋亡的过程, 为 ASFV 增殖创造有利条件<sup>[27, 68]</sup>。pA238L 可以抑制宿主细胞的 NF- $\kappa$ B 转录因子的活性、阻碍钙调蛋白磷酸酶依赖的信号传导途径, 从而抑制宿主免疫细胞的活性, 降低宿主免疫反应的强度<sup>[69]</sup>。

MGF360 和 MGF505/530 家族的一些蛋白可以抑制宿主细胞的 I 型干扰素反应, 从而帮助病毒逃避宿

主的免疫防御机制<sup>[40]</sup>。MGF360 家族 12L 蛋白可抑制干扰素  $\beta$  (Interferon- $\beta$ , IFN- $\beta$ )、核因子  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B) 的 mRNA 转录及启动子活性<sup>[70]</sup>; MGF360 家族的 pA276R 通过抑制干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factor 3, IRF3) 的磷酸化来抑制聚肌胞苷酸刺激 IFN- $\beta$  产生<sup>[71]</sup>; MGF505 家族成员 pA528R 则是抑制聚肌胞苷酸刺激后诱导 IRF3 和 NF- $\kappa$ B 的作用来抑制 IFN 表达, 并抑制 IFN 诱导的酪氨酸激酶-信号转导子及转录激活子 (Janus kinase-signal transducer and activator of transcription, JAK-STAT) 通路<sup>[24]</sup>。I329L 蛋白是一种高度糖基化的 I 型跨膜蛋白, 在 ASFV 囊膜和感染细胞的细胞膜表面分布, 其结构包括信号肽、N-末端的细胞外结构域、跨膜结构域和 C-末端的细胞内结构域。TRIF 是 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 信号通路的关键接头蛋白, I329L 能够抑制 TRIF 的活性, 阻断 TRIF 介导的 IRF3 和 NF- $\kappa$ B 的激活以及下游细胞因子的转录, 从而抑制 TLR3 介导的固有免疫过程和干扰素的产生<sup>[65,71]</sup>。

## 4 总结

ASFV 是一种高致病性病毒, 对猪养殖业造成重大威胁, 其结构蛋白和非结构蛋白在病毒的生命周期中起到了关键作用。结构蛋白是病毒颗粒的组成部分, 不仅为病毒提供了结构支持, 还涉及病毒的感染和进入宿主细胞的过程。非结构蛋白在病毒复制过程中产生, 参与了病毒 DNA 的复制、基因转录、RNA 修饰以及免疫逃逸等过程。

目前, ASFV 编码的多数蛋白的功能和作用机制尚未完全清楚。研究 ASFV 蛋白的结构和功能, 有助于了解病毒感染机制, 为开发高效的 ASF 药物及疫苗提供理论依据。未来的研究方向可以集中在以下两个方面。

### 4.1 深入研究 ASFV 蛋白与宿主细胞之间的相互作用

ASFV 蛋白与宿主细胞之间的相互作用是病毒感染、复制和传播的关键, 不仅涉及病毒的入侵和释放, 还涉及病毒如何调控宿主细胞的代谢、免疫反应和细胞死亡。深入了解这些相互作用将为开发新的治疗策略提供重要线索。例如, 膜蛋白 pE199L 参与病毒与宿主细胞膜的结合和融合, 是病毒入侵的关键。深入研究这些蛋白与宿主细胞受体结合的机制, 有望为开发抑制病毒入侵的药物提供方向。其他蛋白如 pDP71L 和 pS273R 在调控宿主细胞代谢和病毒复制等方面起关键作用, 研究它们的作用机制可为药物开发提供思路。

### 4.2 开发针对 ASFV 蛋白的抑制剂或疫苗

对 ASFV 蛋白的结构和功能进行深入研究是开发抑制剂和疫苗的基础。例如 pNP868R 蛋白的 MTase 结构域在底物识别中起关键作用, 对其底物识别和催化机制的研究可为开发靶向 ASFV 相关酶的生物制剂提供方向; 其他与病毒毒力相关的蛋白如 pC962R、pDP71L 可作为疫苗研发的潜在靶点; CD2v、p72、p54 等结构蛋白具有良好的抗原性, 重组 p54 和 p72 蛋白免疫能诱导中和抗体产生<sup>[42]</sup>, 也有希望应用于疫苗研发。

### 参考文献:

- [1] LIU R, SUN Y, CHAI Y, et al. The structural basis of African swine fever virus pA104R binding to DNA and its inhibition by stilbene derivatives [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117 (20): 11000-11009.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] GOMEZ-VILLAMANDOS J C, BAUTISTA M J, SANCHEZ-CORDON P J, et al. Pathology of African swine fever: the role of monocyte-macrophage [J]. *Virus Res*, 2013, 173 (1): 140-149.
- [5] 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]. *J Virol*, 2010, 84 (15): 7484-7499.
- [6] HAKIZIMANA J N, NYABONGO L, NTIRANDEKURA 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.
- [7] DUAN X, RU Y, YANG W, et al. Research progress on the proteins involved in African swine fever virus infection and replication [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 947180.
- [8] ANDRES G, ALEJO A, SALAS J, et al. African swine fever virus polyproteins pp220 and pp62 assemble into the core shell [J]. *J Virol*, 2002, 76 (24): 12473-12482.
- [9] ALEJO A, MATAMOROS T, GUERRA M, et al. A proteomic atlas of the African swine fever virus particle [J]. *J Virol*, 2018, 92 (23): e01293-01218.
- [10] URBANO A C, FERREIRA F. Role of the DNA-binding protein pA104R in ASFV genome packaging and as a novel target for caccine and drug development [J]. *Vaccines*, 2020, 8 (4): 585.
- [11] EULALIO A, NUNES-CORREIA I, SALAS J, et al. African swine fever virus p37 structural protein is localized in nuclear foci containing the viral DNA at early post-infection times [J]. *Virus Res*, 2007, 130 (1-2): 18-27.
- [12] EULALIO A, NUNES-CORREIA I, CARVALHO A L, et al. Two African swine fever virus proteins derived from a common precursor exhibit different nucleocytoplasmic transport activities [J]. *J Virol*,

- 2004, 78 (18): 9731–9739.
- [13] GUO F, SHI Y, YANG M, et al. The structural basis of African swine fever virus core shell protein p15 binding to DNA [J]. *FASEB J*, 2021, 35 (3): e21350.
- [14] LI G, FU D, ZHANG G, et al. Crystal structure of the African swine fever virus structural protein p35 reveals its role for core shell assembly [J]. *Protein Cell*, 2020, 11 (8): 600–605.
- [15] WANG G, XIE M, WU W, et al. Structures and functional diversities of ASFV proteins [J]. *Viruses*, 2021, 13 (11): 2124.
- [16] LI H, LIU Q, SHAO L, et al. Structural insights into the assembly of the African swine fever virus inner capsid [J]. *J Virol*, 2023; 97 (6): e0026823.
- [17] LI G, LIU X, YANG M, et al. Crystal structure of African swine fever virus pS273R protease and implications for inhibitor design [J]. *J Virol*, 2020, 94 (10): e02125–19.
- [18] GALINDO I, ALONSO C. African swine fever virus: A review [J]. *Viruses*, 2017, 9 (5): 103.
- [19] GOATLEY L C, DIXON L K. Processing and localization of the african swine fever virus CD2v transmembrane protein [J]. *J Virol*, 2011, 85 (7): 3294–3305.
- [20] XU Z, HU Y, LI J, et al. Screening and identification of the dominant antigens of the African swine fever virus [J]. *Front Vet Sci*, 2023, 10: 1175701.
- [21] ZHANG K, LI S, LIU S, et al. Spatiotemporally orchestrated interactions between viral and cellular proteins involved in the entry of African swine fever virus [J]. *Viruses*, 2021, 13 (12): 2495.
- [22] KAY-JACKSON P C, GOATLEY L C, COX L, et al. The CD2v protein of African swine fever virus interacts with the actin-binding adaptor protein SH3P7 [J]. *J Gen Virol*, 2004, 85 (Pt 1): 119–130.
- [23] KOLTISOV A, KRUTKO S, KHOLOD N, et al. Deletion of the CD2 gene in the virulent ASFV congo strain affects viremia in domestic swine, but not the virulence [J]. *Animals (Basel)*, 2023, 13 (12): 2002.
- [24] DIXON L K, ISLAM M, NASH R, et al. African swine fever virus evasion of host defences [J]. *Virus Res*, 2019, 266: 25–33.
- [25] PETROVAN V, MURGIA M V, WU P, et al. Epitope mapping of African swine fever virus (ASFV) structural protein, p54 [J]. *Virus Res*, 2020, 279: 197871.
- [26] ALONSO C, MISKIN J, HERNAEZ B, et al. African swine fever virus protein p54 interacts with the microtubular motor complex through direct binding to light-chain dynein [J]. *J Virol*, 2001, 75 (20): 9819–9827.
- [27] 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 (9): 241.
- [28] HERNAEZ B, ESCRIBANO J M, ALONSO C. Visualization of the African swine fever virus infection in living cells by incorporation into the virus particle of green fluorescent protein-p54 membrane protein chimera [J]. *Virology*, 2006, 350 (1): 1–14.
- [29] LITHGOW P, TAKAMATSU H, WERLING D, et al. Correlation of cell surface marker expression with African swine fever virus infection [J]. *Vet Microbiol*, 2014, 168 (2–4): 413–419.
- [30] HERNAEZ B, GUERRA M, SALAS M L, et al. African swine fever virus undergoes outer envelope disruption, capsid disassembly and inner envelope fusion before core release from multivesicular endosomes [J]. *PLoS Pathog*, 2016, 12 (4): e1005595.
- [31] RODRÍGUEZ I, NOGAL M L, REDREJO-RODRIGUEZ M, 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.
- [32] MATAMOROS T, ALEJO A, RODRIGUEZ 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): e00789–20.
- [33] LI T, ZHAO G, ZHANG T, et al. African swine fever virus pE199L induces mitochondrial-dependent apoptosis [J]. *Viruses*, 2021, 13 (11): 2240.
- [34] ZHU X, FAN B, ZHOU J, et al. A high-throughput method to analyze the interaction proteins with p22 protein of African swine fever virus *in vitro* [J]. *Front Vet Sci*, 2021, 8: 719859.
- [35] VUONO E A, RAMIREZ - MEDINA E, PRUITT S, et al. Evaluation of the function of the ASFV kP177R gene, encoding for structural protein p22, in the process of virus replication and in swine virulence [J]. *Viruses*, 2021, 13 (6): 986.
- [36] XIA N, WANG H, LIU X, et al. African swine fever virus structural protein p17 inhibits cell proliferation through ER stress—ros mediated cell cycle arrest [J]. *Viruses*, 2020, 13 (1): 21.
- [37] BROOKES S M, SUN H, DIXON L K, et al. Characterization of African swine fever virion proteins j5R and j13L: immuno-localization in virus particles and assembly sites [J]. *J Gen Virol*, 1998, 79 (Pt 5): 1179–1188.
- [38] VUONO E, RAMIREZ-MEDINA E, SILVA E, et al. Deletion of the HI08R gene reduces virulence of the pandemic eurasia strain of African swine fever virus with surviving animals being protected against virulent challenge [J]. *J Virol*, 2022, 96 (14): e0054522.
- [39] SALAS M L, ANDRES G. African swine fever virus morphogenesis [J]. *Virus Res*, 2013, 173 (1): 29–41.
- [40] DING M, DANG W, LIU H, et al. Combinational deletions of MGF360–9L and MGF505–7R attenuated highly virulent African swine fever virus and conferred protection against homologous challenge [J]. *J Virol*, 2022, 96 (14): e0032922.
- [41] LIU Q, MA B, QIAN N, et al. Structure of the African swine fever virus major capsid protein p72 [J]. *Cell Res*, 2019, 29 (11): 953–955.
- [42] NEILAN J G, ZSAK L, LU Z, et al. Neutralizing antibodies to African swine fever virus proteins p30, p54, and p72 are not sufficient for antibody-mediated protection [J]. *Virology*, 2004, 319 (2): 337–342.
- [43] KEITA D, HEATH L, ALBINA E. Control of African swine fever virus replication by small interfering RNA targeting the A151R and VP72 genes [J]. *Antivir Ther*, 2010, 15 (5): 727–736.
- [44] EPIFANO C, KRIJNSE-LOCKER J, 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.
- [45] 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 infec-

- tivity [J]. *J Virol*, 2001, 75 (15): 6758-6768.
- [46] 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.
- [47] 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*, 2008, 130 (1-2): 47-59.
- [48] BLOME S, FRANZKE K, BEER M. African swine fever—a review of current knowledge [J]. *Virus Res*, 2020, 287: 198099.
- [49] AVAGYAN H R, HAKOBYAN S A, POGHOSYAN A A, et al. African swine fever virus manipulates the cell cycle of G0-infected cells to access cellular nucleotides [J]. *Viruses*, 2022, 14 (8): 1593.
- [50] DIXON L K, CHAPMAN D A, NETHERTON C L, et al. African swine fever virus replication and genomics [J]. *Virus Res*, 2013, 173 (1): 3-14.
- [51] COELHO J, LEITAO A. The African swine fever virus (ASFV) topoisomerase II as a target for viral prevention and control [J]. *Vaccines (Basel)*, 2020, 8 (2): 312.
- [52] 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.
- [53] LIANG R, WANG G, ZHANG D, et al. Structural comparisons of host and African swine fever virus dUTPases reveal new clues for inhibitor development [J]. *J Biol Chem*, 2021, 296: 100015.
- [54] VUONO E A, RAMIREZ-MEDINA E, PRUITT S, et al. Deletion of the ASFV dUTPase gene E165R from the genome of highly virulent African swine fever virus georgia 2010 does not affect virus replication or virulence in domestic pigs [J]. *Viruses*, 2022, 14 (7): 1409.
- [55] CHEN Y, LIU H, YANG C, et al. Structure of the error-prone DNA ligase of African swine fever virus identifies critical active site residues [J]. *Nat Commun*, 2019, 10 (1): 387.
- [56] JEZEWSKA M J, SZYMANSKI M R, BUJALOWSKI W. Interactions of the DNA polymerase X from African swine fever virus with the ssDNA. Properties of the total DNA-binding site and the strong DNA-binding subsite [J]. *Biophys Chem*, 2011, 158 (1): 26-37.
- [57] OLESEN A S, KODAMA M, LOHSE L, et al. Identification of African swine fever virus transcription within peripheral blood mononuclear cells of acutely infected pigs [J]. *Viruses*, 2021, 13 (11): 2333.
- [58] EATON H E, KOBAYASHI T, DERMODY T S, et al. African swine fever virus NP868R capping enzyme promotes reovirus rescue during reverse genetics by promoting reovirus protein expression, virion assembly, and RNA incorporation into infectious virions [J]. *J Virol*, 2017, 91 (11): e02416-16.
- [59] DU X, GAO Z Q, GENG Z, et al. Structure and biochemical characteristic of the methyltransferase (MTase) domain of RNA capping enzyme from African swine fever virus [J]. *J Virol*, 2021, 95 (5): e02029-20.
- [60] YANG Y, ZHANG C, LI X, et al. Structural insight into molecular inhibitory mechanism of InsP (6) on African swine fever virus mRNA - decapping enzyme g5Rp [J]. *J Virol*, 2022, 96 (10): e0190521.
- [61] CACKETT G, SYKORA M, WERNER F. Transcriptome view of a killer: African swine fever virus [J]. *Biochem Soc Trans*, 2020, 48 (4): 1569-1581.
- [62] KINYANYI D, OBIERO G, OBIERO G F O, et al. *In silico* structural and functional prediction of African swine fever virus protein-B263R reveals features of a TATA-binding protein [J]. *PeerJ*, 2018, 6: e4396.
- [63] 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.
- [64] SIMOES M, FREITAS F B, LEITAO A, et al. African swine fever virus replication events and cell nucleus; new insights and perspectives [J]. *Virus Res*, 2019, 270: 197667.
- [65] 王西西, 陈青, 陈鸿军, 等. 非洲猪瘟病毒免疫逃逸相关蛋白研究进展 [J]. *病毒学报*, 2018, 34 (6): 929-935.
- [66] QUINTAS A, PEREZ-NUNEZ D, SANCHEZ E G, et al. Characterization of the African swine fever virus decapping enzyme during infection [J]. *J Virol*, 2017, 91 (24): e00990-17.
- [67] WEK R C, JIANG H Y, ANTHONY T G. Coping with stress: eIF2 kinases and translational control [J]. *Biochem Soc Trans*, 2006, 34 (Pt 1): 7-11.
- [68] BARBER C, NETHERTON C, GOATLEY L, et al. Identification of residues within the African swine fever virus DP71L protein required for dephosphorylation of translation initiation factor eIF2alpha and inhibiting activation of pro-apoptotic CHOP [J]. *Virology*, 2017, 504: 107-113.
- [69] DIXON L K, ABRAMS C C, BOWICK G, et al. African swine fever virus proteins involved in evading host defence systems [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2004, 100 (3/4): 117-134.
- [70] ZHUO Y, GUO Z, BA T, et al. African swine fever virus MGF360-12L inhibits type I interferon production by blocking the interaction of importin alpha and NF-kappaB signaling pathway [J]. *Virol Sin*, 2021, 36 (2): 176-186.
- [71] CORREIA S, VENTURA S, PARKHOUSE R M. Identification and utility of innate immune system evasion mechanisms of ASFV [J]. *Virus Res*, 2013, 173 (1): 87-100.