

Baculovirus Based Display and Gene Delivery System*

Yong Leng¹, Zhenhui Song^{1,2#}, Yingjun Zhang³, Xiaojuan Qi²

¹Department of Animal Medicine, Southwest University Rongchang School District, Chongqing

²College of Veterinary Medicine, Xinjiang Agricultural University, Urumqi

³Library, Southwest University Rongchang School District, Chongqing

Email: #szh7678@yahoo.com.cn

Received: Apr. 2nd, 2013; revised: Apr. 10th, 2013; accepted: May 4th, 2013

Copyright © 2013 Yong Leng et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract: The baculovirus expression vector system has been used extensively to produce numerous proteins originating from both prokaryotic and eukaryotic sources. Through fusing to the entire membrane protein gp64 of baculovirus or combining with special membrane anchor domain, exotic proteins could be expressed on the surface of baculovirus. It was found that baculovirus harboring mammalian expression cassettes could efficiently deliver foreign genes into mammalian cells and successfully express foreign genes. The baculovirus as surface display and gene delivery vector in mammalian cells have extensive prospects. In this article, the progress of baculovirus surface display technology and gene delivery system in mammalian cells was reviewed.

Keywords: Baculovirus; Surface Display; Gene Delivery

以杆状病毒为基础的表面展示与基因表达系统*

冷 勇¹, 宋振辉^{1,2#}, 张鹏俊³, 齐小娟²

¹西南大学荣昌校区动物医学系, 重庆

²新疆农业大学动物医学学院, 乌鲁木齐

³西南大学荣昌校区图书馆, 重庆

Email: #szh7678@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013年4月2日; 修回日期: 2013年4月10日; 录用日期: 2013年5月4日

摘 要: 杆状病毒表达载体系统已被广泛应用于真核和原核生物的各种蛋白生产。通过与杆状病毒囊膜蛋白 gp64 融合表达或与特异性的锚定部位结合, 可以将外源蛋白质展示在杆状病毒表面。研究发现, 携带哺乳动物启动子的重组杆状病毒能将外源基因传递入哺乳动物细胞, 实现外源蛋白的有效表达, 表达蛋白的结构更接近天然蛋白。杆状病毒作为一种新型的基因表面展示和基因传递系统, 具有广阔的应用前景, 本文对杆状病毒作为外源蛋白表面展示技术和作为基因传递载体在哺乳动物细胞中表达外源基因的研究进展进行了综述。

关键词: 杆状病毒; 表面展示; 基因传递

1. 引言

杆状病毒属于昆虫病毒, 作为一种高效基因转移载体被广泛用于外源基因的表达研究, 该表达系统能

*基金项目: 中央高校基本科研业务基金(XDJK2010C093)。

#通讯作者。

够生产具有翻译后修饰的蛋白产物, 接近于天然的蛋白结构, 且具有较高的生物学活性, 杆状病毒载体除具备病毒载体的优势外, 还具有低毒、安全、制备简单和易于得到高滴度的病毒粒子等优点。这为开发杆状病毒作为基因表面展示和基因传递系统提供了理论

基础。自 90 年代初，噬菌体展示技术和细菌展示技术被构建以来，在抗原表位筛选，酶抑制剂和受体拮抗剂分离，细胞信号转导途径及抗体工程研究等领域得到了广泛的应用。但是，噬菌体和细菌表面展示技术属于原核表达系统，缺乏真核生物蛋白正确折叠所需的分子伴侣及相关酶类，不能完成复杂蛋白糖基化、磷酸化、甲基化、乙酰化、二硫键异构化等翻译后修饰过程，致使表达展示的蛋白质活性受到限制。杆状病毒表面展示系统属于高等真核生物展示系统，可弥补原核展示系统的不足，并保持展示系统的优点。在高亲和力抗体及多肽药物筛选、蛋白质抗原表位分析、构建多肽文库和抗体库、新型疫苗研制、基因治疗等方面表现出广阔的应用前景。

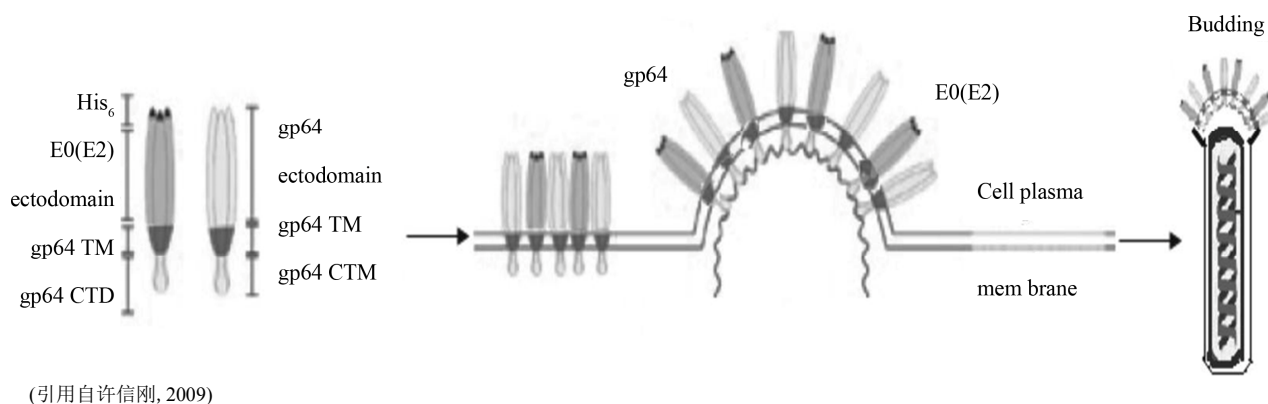
杆状病毒不能感染哺乳动物，却可以进入不同物种和组织来源的多种哺乳动物细胞，并在合适的哺乳动物启动子控制下表达外源基因。这为以杆状病毒为基础的基因传递系统提供了理论依据。杆状病毒科可分为核型多角体病毒属(nuclear polyhedrosis virus, NPV)和颗粒体病毒属(granulosis virus, GV)。其中，苜蓿银纹夜蛾核多角体病毒(*autographa californica nuclear polyhedrosis virus*, AcMNPV)和家蚕核型多角体病毒(*bombyxmori nuclear polyhedrosis virus*, BmNPV)等属于 I 型核多角体病毒。目前研究及应用最为广泛的是以 I 型核多角体病毒为基础的表面展示和基因传递系统，该系统适合于复杂的真核蛋白的表面展示和表达，可以对外源蛋白进行糖基化加工和折叠等翻译后修饰，尤其适合于表达经翻译后加工修饰才具有生物活性的细胞表面蛋白和分泌蛋白。

2. 以杆状病毒为基础的表面展示技术

2.1. 通过融合 gp64 的表面呈现技术

杆状病毒在复制时产生两种形态和功能都有差异的病毒粒子，即有两种表现型：芽殖型病毒体(budded virus, BV)和包含体来源型病毒体(occlusion, ODV)，杆状病毒囊膜糖蛋白 gp64 是芽殖型病毒体 BV 特有的结构蛋白，又称膜粒蛋白，以同源二聚体、三聚体或四聚体的方式存在于囊膜内，被感染细胞或病毒粒子的表面，介导病毒与受感染细胞的融合及侵入过程。gp64 有 512 个氨基酸，N 端为信号肽序列，近 C 端为跨膜结构域，外源蛋白在信号肽的 C 端与 gp64 的 N 端之间发生融合。融合蛋白经过真核细胞内质网加工后，信号肽被切除，形成的 N 端融合蛋白可稳定地展示于杆状病毒的表面，形成刺猬状“假病毒”。已有研究报道：如图 1 将猪瘟病毒主要保护性抗原 E0、E2 的囊膜蛋白基因插入到 AcMNPV gp64 新号肽序列与成熟的 gp64 蛋白序列之间，融合表达于杆状病毒感染的细胞表面和重组杆状病毒的囊膜上，通过免疫标记及免疫荧光分析证明，表面展示的 E0、E2 融合蛋白具有显著免疫原性^[1]。

此外，也有将目的蛋白融合于 gp64 的膜锚定结构域中，即将目的基因插入到 gp64 基因的 ORF 中，虽然破坏了 gp64 的完整型，但也可以成功实现外源蛋白的表面展示。融合了 gp64 糖蛋白后外源蛋白质能够在 AcMNPV 的表面得以显示。其原理是：在 AcMNPV gp64 的近寡聚结构域有一个预测形成两性性 α 螺旋的 4-3 氨基酸重复(4-3 heptad repeat, 简称 HR)^[2]，研究表明该特定序列在 gp64 介导的膜融合



(引用自许信刚, 2009)

Figure 1. Ideograph of GP64-fused fake recombinant virus
图 1. 融合蛋白 GP64 重组杆状病毒“假病毒”模式图

过程中起重要作用如图 2。

Plonsky 和 Zimmerberg^[3]根据杆状病毒感染的 Sf9 细胞的电生理学实验提出, 一个由 5~7 个 gp64 三聚体形成的环可能作为一个融合器, 促进环内融合孔的开放。Markovic 等^[4]发现在膜融合位点, gp64 三聚体瞬时形成的环状复合体介导膜融合, 此结构限制了脂质的迁移, 允许从激活后融合蛋白构象变化释放的能量提供给脂质克服能域(跨越细胞膜的区域), 重新分布形成连续性的脂, 最后, 融合孔形成并扩大, 完成膜的融合。

2.2. 通过选择性膜锚的表面展示技术

除可将 gp64 囊膜蛋白作为目的多肽或蛋白融合表达的对象外, 还可以将外源蛋白通过与其他病毒膜蛋白和跨膜结构域融合后, 在杆状病毒表面得以展示。如将目的多肽或蛋白融合于 gp64 信号肽与异源血凝素(HA)或水泡性口膜炎病毒 G 糖蛋白(VSV-G)膜锚定结构域之间, 可以展示于杆状病毒表面^[5]。

水泡性口膜炎病毒 G 糖蛋白的天然型和截断型已经被应用于假型化杆状病毒的开发, 从而改变病毒的趋向性。VSV-G 能够提高病毒对哺乳动物细胞的转导力, 并且具有替代融合 gp64, 恢复缺失 gp64 病毒的装配和感染力的能力^[6,7]。此外, 应用水泡性口膜炎病毒 G 糖蛋白假型化杆状病毒表达 C 型肝炎病毒糖蛋白 E2, 可诱导机体显著的体液免疫和细胞免疫^[8]。水泡性口膜炎病毒 G 糖蛋白横跨膜锚已被用于增强 GFP(绿色荧光蛋白)和免疫球蛋白 G 结构内 ZZ 区域蛋白 A 在杆状病毒表面的和展示和表达^[9,10]。

一些肿瘤归巢肽在杆状病毒表面被展示, 通过与 VSV-G 膜锚定域融合并使癌细胞产生选择趋向性^[11]。为了增强特异性, 通过去除 VSV-G 胞外域中调解非

特异性结合和转导杆状病毒的 21 个氨基酸的方式使 VSV-G 融合策略得到进一步改进^[10]。这些载体的展示显著地提高了对人乳腺癌和肝癌细胞的约束力以及转基因的传递, 突出显示了定向性的杆状病毒在癌症的基因治疗中的潜力。

2.3. 融合 vp39 的衣壳显示

通过将绿色荧光蛋白融合到 vp39 蛋白的氨基和羟基末端可以使外源蛋白在病毒衣壳上展示出来。这个策略将促进细胞内和细胞核中病毒衣壳的运动路径更加具体明确。使杆状病毒进入细胞以及核转入哺乳动物细胞的机制的研究更加详细。如 Kukkonen 等^[12]将 eGFP 蛋白融合到杆状病毒衣壳蛋白 VP39 的 N 端或 C 端, 以此来研究杆状病毒感染哺乳动物细胞后, 核衣壳从细胞表面到入核的过程。

2.4. 膜融合蛋白 F

尽管 gp64 在组 I NPV 中普遍存在, 但在组 II NPV 中的舞毒夜蛾核多角体病毒(Lymantria dispar MNPV, LdMNPV), 甜菜夜蛾核多角体病毒(Spodoptera exigua MNPV, SeMNPV), 美洲棉铃虫核多角体病毒(Helicoverpa Single NPV, HzSNPV)和中国棉铃虫核多角体病毒(Helicoverpa armigera SNP, HaSNPV)中发现缺少 gp64 的同源基因。通过计算机分析 LdMNPV 基因组发现 ORF130 的编码产物具有膜融合蛋白的特征, 转染表达 LD130 的质粒可在细胞中诱导融合。此外在转染细胞的质膜上, 用荧光显微镜也发现了 LD130-egfp 融合蛋白, 这与膜融合功能是相吻合的。通过 Western blot 分析表明 LD130 是 BV 的组成成分, Ijkel 等鉴定了 SeMNPV 的膜融合蛋白 SE8 是 LD130 的同源蛋白^[13]。Lung 等发现 LD130 和 SE8 都能使缺

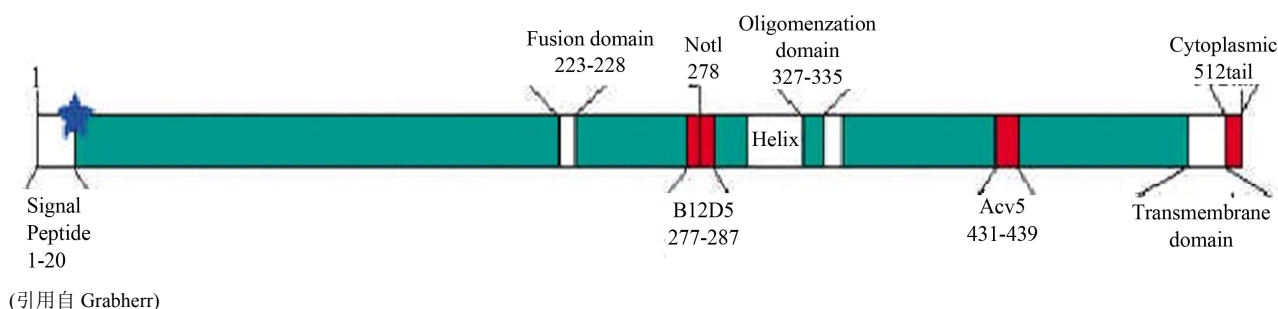


Figure 2. The structure of GP64 protein
图 2. ACMNPV GP64 的结构

失 gp64 的 AcMNPV 得以复制, 尽管滴度远远低于野生型病毒, 但它们仍可以替代部分 gp64 的重要功能^[14]。所以, LD130 及其同源蛋白 SE8 等被命名为 F(fusion)蛋白。

杆状病毒 F 蛋白在结构上类似于副粘病毒科的融合蛋白, 二者均有一个小的 N-端亚单位, 一个大的 C-端膜锚定亚单位然后由二硫键相连而成。虽然整体的同源性不是很高, 但是预测的结构域如 α 螺旋和 α 片层, 以及 furin 切割位点, 七氨基酸重复(Heptad repeat, HR)和跨膜区结构是较保守的, 可能形成相似的高级结构。此外, 与副粘病毒科的融合蛋白类似, F 蛋白在相似位置也有一个推测的融合肽和 2~3 个 HR, 如图 3 为鹅源副黏病毒 NA-1 株 F 蛋白结构与 B 细胞抗原表位预测结构模式图。进一步研究正在进行以证实这些 HR 对膜融合功能是否必要。

3. 以杆状病毒为基础的基因表达系统

3.1. 基于杆状病毒的体内基因传递

杆状病毒不能在哺乳动物细胞内复制, 但可有效地将基因转移给多种细胞。所以, 它在理论上有望成为一种应用于哺乳动物体内基因转移表达的理想载体。然而, 最早人们尝试了很多方法, 包括直接将杆状病毒注入小鼠体内, 都未检测到外源基因的表达^[15]。血清中不耐热的因子可使杆状病毒失去转移基因的能力, 提示病毒在体内可被补体所灭活。研究者已探索出提高杆状病毒补体耐受性的方法。比如, 使用补体灭活调节因子 sCR1 和针对补体激活途径的抑制剂来保护杆状病毒免受补体的灭活。将杆状病毒注入小鼠门静脉内, 同时通过小鼠尾静脉注入 sCR1, 可在肝组织内检测到外源基因的表达。将杆状病毒直接注射确缺乏 AKP 补体的肝脏, 能有效地将基因传递给小鼠, 并在注射位点附近表达^[16]。此外, 还可以利用衰变加速因子(DAF), 构建补体抗性病毒株。研究表明, 经 VSV-G 修饰的杆状病毒比野生型杆状病毒具有更强的抵抗补体灭活作用的能力, 除大鼠血清外, 这些 VSV-G 修饰过的杆状病毒可抵抗人、兔、豚鼠、仓鼠和小鼠血清的灭活作用, 将此修饰的杆状病毒注入小鼠体内, 可在其内检测到转基因的表达^[16]。另一种实现杆状病毒逃脱体内补体灭活作用的方法是优化免疫途径。将杆状病毒以立体定位注射(stereotaxic



Figure 3. Predicted NA—a three-dimensional structure of the F protein

图 3. 预测的 NA——1 株 F 蛋白的三维空间结构

injection)的方式注入大鼠纹状体和玻璃体, 结果在远离注射部位的神经元内检测到外源基因的表达, 说明杆状病毒可通过神经元的轴突运输, 而不接触补体^[17]。

3.2. 转导哺乳动物细胞

杆状病毒在哺乳动物细胞中不能复制, 对细胞没有毒性, 加上杆状病毒本身具有基因组大、可操作性好等优点, 作为哺乳动物基因传递载体, 将抗原递呈给哺乳动物细胞已受到广泛关注。不同动物来源的细胞, 重组杆状病毒的转导效率和表达效率存在差异, 已知的杆状病毒可转导的宿主细胞系包括人源 Huh7、HepG2 细胞、鼠源 CHO、BHK 细胞、猪源肾细胞系 CPK、FS-L3 细胞、牛源 MDB、BT 细胞、小鼠原代肾细胞及不同哺乳动物骨髓来源间充质干细胞(BMSC)等^[18-21]。用含有细胞巨化病毒(CMV)启动子-荧光酶基因或 Rous 肉瘤病毒的 LTR 启动子- β -gal 基因的重组病毒转导原代肝细胞和非肝细胞细胞系, 结果表明, 在肝细胞和肝癌细胞中, 可观察到有效转导和高水平的报告基因活性, 在其他细胞系中如 COS-1、T-47D 中, 可观察到报告基因显著低水平活性, 而在 Hela、CHO、NIH3T3 和 CV-1 细胞, 几乎检测不到报告基因的活性, 但是用带有杂交启动子(鸡的 β -肌动蛋白启动子和细胞巨化病毒早期增强元件 CAG 启动子)的重组杆状病毒能成功将基因传递到肝脏起源细胞、COS-7 和猪肾细胞^[22]。据报道将乙型肝炎病毒(HBV)或丙型肝炎病毒(HCV)全长基因组装入杆状病毒, 然后转导肝细胞, 也能检测到 HBV 或 HCV 基因的表达^[23,24]。在哺乳类细胞内, 除启动瞬时表达外, 重组的杆状病毒也能稳定转导细胞系。含有猴病毒 40 启动子-新霉素磷酸转移酶基因的杆状病毒转导 CHO 细胞, 并用抗生素 G418 进行筛选, 可获得稳定表达 GFP 的 CHO 细胞系分离^[25]。Palombo 等通过构建杆状病毒-腺伴随病毒(AAV)镶嵌病毒, 用哺乳细胞启

动子控制表达盒, 两侧为 ITP, 能将 AAV 整合到宿主细胞染色体。

除了传递于一般的细胞外, 目前对利用杆状病毒系统传递基因至神经细胞的研究在国内外鲜有报道。Christos Kenoutis 等以家蚕杆状病毒为载体, 利用含有哺乳动物启动子控制的标记绿色荧光蛋白的重组杆状病毒感染人类细胞系(HEK293)和原代培养的大鼠雪旺氏细胞, 结果表明在感染细胞中产生高水平外源蛋白的表达。通过细胞毒素分析与转录组分析表明, 杆状病毒感染的 HEK293 细胞不会出现细胞毒素和微量转录反应。通过免疫细胞化学标记蛋白 S-100, 神经胶质纤维酸性蛋白和 p75 神经生长因子受体分析, 确定对被感染的雪旺氏细胞仍然保持着自身特有的形态学和分子表型的特征。此外, 被杆状病毒感染的雪旺氏细胞能够在体外分化并且表达标记的髓鞘蛋白 PO。通过这些研究, 表明利用杆状病毒可将外源基因传递入人的神经细胞, 并表达外源基因。此外也初步证明, 用杆状病毒作为载体转导人的神经细胞是安全的, 可利用的方法^[26]。

目前关于杆状病毒进入哺乳动物细胞的详细机理尚不清楚, 现在普遍认为杆状病毒可能通过内吞作用进入细胞, 内吞泡中的低 PH 条件可诱导病毒外膜蛋白 gp64 的构象发生变化, 使膜融合区域暴露并与内吞泡膜融合释放出病毒核衣壳。实验表明, 杆状病毒囊膜蛋白 gp64 在吸附哺乳动物细胞和内体逃逸的过程中发挥着重要作用^[27,28]。缺失 gp64 基因的杆状病毒无法进入哺乳动物细胞, 而高效表达 gp64 蛋白的杆状病毒可显著提高报告基因在哺乳动物细胞中的表达效率, 已知哺乳动物细胞表面的磷脂充当了 gp64 的“码头”, 有利于病毒接触细胞, 除此之外, 宿主细胞中是否有与 gp64 特异性结合的蛋白参与病毒进入细胞的过程还不明确。杆状病毒与哺乳动物细胞表面受体分子的结合应该是杆状病毒进入哺乳动物细胞的重要环节, 但目前这一过程的详细机制仍未阐明。

参考文献 (References)

- [1] 许信刚, 董德文. 杆状病毒表面展示系统及其研究进展[J]. 西北农林科技大学学报, 2009, 37(8): 36-42.
- [2] S. A. Monsma, G. W. Blissard. Identification of a membrane fusion domain and an oligomerization domain in the baculovirus GP64 envelope fusion protein. *Journal of Virology*, 1995, 69(4): 2583-2595.
- [3] I. Plonsky, J. Zimmerberg, The initial fusion pore induced by baculovirus GP64 is large and forms quickly. *Journal of Cell Biology*, 1996, 135(2): 1831-1839.
- [4] I. Markovic, H. Pulyaeva, A. Sokoloff, et al. Membrane fusion-mediated by baculovirus GP64 involves assembly of stable GP64 trimers into multiprotein aggregates. *Journal of Cell Biology*, 1998, 143(5): 1155-1166.
- [5] 林旭瓊, 陈寅等. 杆状病毒表面展示系统的研究进展[J]. 生物技术通报, 2004, 4: 5-9.
- [6] H. Tani, C. K. Limn, C. C. Yap, et al. *In vitro* and *in vivo* gene delivery by recombinant baculoviruses. *Journal of Virology*, 2003, 77(18): 9799-9808.
- [7] Y. Kitagawa, H. Tani, C. K. Limn, et al. Ligand-directed gene targeting to mammalian cells by pseudotype baculoviruses. *Journal of Virology*, 2005, 79(6): 3639-3652.
- [8] A. Facciabene, L. Aurisicchio and N. La Monica. Baculovirus vectors elicit antigen-specific immune responses in mice. *Journal of Virology*, 2004, 78(16): 8663-8672.
- [9] S. D. Chapple, I. M. Jones. Non-polar distribution of green fluorescent protein on the surface of *Autographa californica* nucleopolyhedrovirus using a heterologous membrane anchor. *Journal of Biotechnology*, 2002, 95(3): 269-275.
- [10] K. Ojala, J. Koski, W. Ernst, et al. Improved display of synthetic IgG-binding domains on the baculovirus surface. *Technology in Cancer Research and Treatment*, 2004, 3(1): 77-84.
- [11] A. R. Mäkelä, H. Matilainen, D. J. White, et al. Enhanced baculovirus-mediated transduction of human cancer cells by tumor-homing peptides. *Journal of Virology*, 2006, 80(13): 6603-6611.
- [12] S. P. Kukkonen, K. J. Airene, V. Marjomaki, et al. Baculovirus capsid display: a novel tool for transduction imaging. *Molecular Therapy*, 2003, 8(5): 853-862.
- [13] W. F. Ijkel, M. Westenberg, R. W. Goldbach, et al. A novel baculovirus envelope fusion protein with a proprotein convertase cleavage site. *Virology*, 2000, 275(1): 30-41.
- [14] O. Lung, M. Westenberg, J. M. Vlask, et al. Pseudotyping *Autographa californica* multicapsid nucleopolyhedrovirus (AcMNPV): F proteins from group II NPVs are functionally analogous to AcMNPV GP64. *Journal of Virology*, 2002, 76(11): 5729-5736.
- [15] 曹翠平, 吴小锋. 昆虫杆状病毒应用于哺乳动物基因治疗的研究进展[J]. 微生物学报, 2006, 46(4): 668-672.
- [16] 余倩. 杆状病毒凋亡抑制基因的研究进展[J]. 生物技术通报, 2011, 2: 33-36.
- [17] Y. Li, X. Wang, H. Guo, et al. Axonal transport of recombinant baculovirus vectors. *Molecular Therapy*, 2004, 10(6): 1121-1129.
- [18] 王建明. 杆状病毒疫苗载体的应用研究进展[J]. 微生物学免疫学进展, 2011, 39(3): 64-67.
- [19] L. Garam, H. Dongun, Y. S. Jae, H. K. Jae and Y. Sorah. Protonomic analysis of swine hepatitis E virus (sHEV)-infected livers reveals upregulation of apolipoprotein and down regulation of ferritin heavy chain. *Immunology & Medical Microbiology*, 2011, 61(3): 359-363.
- [20] T. Hideyuki, T. Toshinori, J. Suljid, N. Shigeo, T. Masaharu, N. Tsutomu, M. Hitoshi and Y. Yasuyuki. A549 and PLC/PRF /5 cells can support the efficient propagation of swine and wild boar hepatitis E virus (HEV) strains: Demonstration of HEV infectivity of porcine liver sold as food. *Archives of Virology*, 2012, 157(2): 235-246.
- [21] Y. Z. Hou, S. C. Dong, Q. W. Yi, G. H. Qi, C. C. Huan and F. L. Zheng. Both swine and human cells are capable to support the replication of swine hepatitis E virus type 4 *in vitro*. *Virus Research*, 2011, 158(1): 289-293.
- [22] 兰丽盼, 吴小锋. 昆虫杆状病毒研究和应用新进展[J]. 农业生物技术学报, 2008, 16(6): 1056-1060.
- [23] 潘永飞. 重组杆状病毒作为一种新型的基因治疗载体的研究[D]. 华中农业大学, 2009.
- [24] 卢新亚. SARS CoV 类病毒颗粒免疫原性的研究与杆状病毒作为活载体疫苗载体的初步探索[D]. 中国科学院武汉病毒

- 研究所, 2007.
- [25] J. P. Condreay, S. M. Witherspoon, W. C. Clay, et al. Transient and stable gene expression in mammalian cells transduced with a recombinant baculovirus vector. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1999, 96(1): 127.
- [26] C. Kenoutis, R. C. Efrose, L. Swevers, et al. Baculovirus-mediated gene delivery into mammalian cells does not alter their transcriptional and differentiating potential but is accompanied by early viral gene expression. *Journal of Virology*, 2006, 80(8): 4135-4146.
- [27] K. Chikako, K. Yuuki, T. Shuhei, et al. Baculovirus GP64-mediated entry into mammalian cells. *Journal of Virology*, 2012, 86(5): 2610-2620.
- [28] X. W. Chun, W. Shu. A PH-sensitive heparin-binding sequence from gp64 protein of baculovirus is important for binding to mammalian cells but not to sf9 insect cells. *Journal of Virology*, 2012, 86(1): 484-491.