

肌动蛋白抑制了杆状病毒多角体蛋白基因的转录与表达*

贾蕴莉^{1,2)} 余泽华^{2)**} 陈新文^{1)**}

(¹⁾中国科学院武汉病毒研究所, 病毒学国家重点实验室, 武汉 430071; ²⁾华中师范大学生命科学院昆虫研究所, 武汉 430079)

摘要 为进一步研究肌动蛋白在杆状病毒感染晚期的作用, 利用 Bac-to-Bac 系统构建了表达多角体基因、肌动蛋白与绿色荧光蛋白融合基因的重组病毒 vAc-ph/70GA, 同时构建对照病毒 vAc-ph. 实验发现, 重组病毒 vAc-ph/70GA 感染 Sf9 细胞后能持续表达肌动蛋白, 但不能形成多角体, vAc-ph 则能形成多角体. SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 显示, vAc-ph/70GA 感染晚期, 细胞内没有多角体蛋白的表达; RT-PCR 的结果进一步表明多角体基因的转录被抑制. 肌动蛋白的表达并没有影响 vAc-ph/70GA 对细胞的感染力. 结果表明, 晚期表达的外源肌动蛋白抑制了多角体基因的转录和表达, 从而导致多角体不能正常产生.

关键词 苜蓿银纹夜蛾多核衣壳核型多角体病毒, 肌动蛋白, 多角体, 多角体基因

学科分类号 Q7

肌动蛋白是真核细胞骨架的主要成分, 参与细胞内的许多重要功能活动. 近年来的研究表明, 许多病毒在其感染周期中, 与细胞内的肌动蛋白相互作用^[1-3], 这是病毒控制和利用宿主细胞机器为其自身复制服务的重要体现. 肌动蛋白也参与了杆状病毒在昆虫细胞内的复制和装配: 杆状病毒的病毒粒子进入细胞后, 核衣壳在向细胞核运输的过程中, 能引起细胞质内的肌动蛋白聚合, 形成肌动蛋白索^[4,5]; 病毒早期基因 *arif-1* 的表达又导致肌动蛋白索的消失和细胞膜面肌动蛋白斑的形成^[6,7]; 感染晚期, 受染细胞核内形成 F-actin 参与病毒基因组的复制、病毒粒子的组装等过程^[8-11]; 感染极晚期, 细胞肌动蛋白基因表达的关闭与病毒多角体基因和 *p10* 基因的超量表达有关^[12,13]. 最近李小青等^[14]研究发现, 在杆状病毒感染的极晚期, 肌动蛋白有从细胞核到细胞质转移的现象. 这种转运是否与多角体的形成有关, 其生物学意义和详细机制还有待进一步研究. 因此, 我们构建了以热休克蛋白 70 基因启动子控制表达 eGFP-actin 融合蛋白、同时表达多角体蛋白的重组 AcMNPV 病毒, 对感染晚期和极晚期杆状病毒多角体的形成与肌动蛋白之间的关系做进一步的研究. 实验发现, 肌动蛋白的全程表达抑制了杆状病毒多角体基因的转录和表达, 从而影响多角体的形成.

1 材料与方法

1.1 材料

野生型 AcMNPV 病毒和 Sf9 细胞, 大肠杆菌 DH10B、DH5 α 和质粒 pHSP70PLVI+CAT 均由中国科学院武汉分院病毒研究所病毒学国家重点实验室保存; 质粒 pFast BAC HTa-eGFP-actin 来源于华中师范大学昆虫研究所; Sf9 细胞用 Grace+10%胎牛血清, 于 28℃ 培养; Grace 培养基、胎牛血清为 GIBCO/BRL 公司产品; DNA 凝胶回收试剂盒为 Omega 公司产品; DNA 限制性内切酶、抗生素、RNase、DNA marker 等均为 Tarkara 公司产品; 提取细胞总 mRNA 所用 Trizol 试剂为 Invitrogen 公司产品; 反转录所用无 RNase 的 DNase、Oligo(dT)₁₅、M-MLV 反转录酶为 Promega 公司产品; RNase 抑制剂为 Biostar 公司产品; dNTP 购自武汉天源生物技术公司; 引物由北京奥科公司合成; 基因测序在上海华诺公司完成.

*国家重点基础研究发展规划项目(973)(2003CB1140), 国家自然科学基金资助项目(30325002, 39870039).

** 通讯联系人.

陈新文, Tel: 027-87199106, E-mail: chenxw@pentium.whiov.ac.cn

余泽华, Tel: 027-67867226, E-mail: yuzehua@hotmail.com

收稿日期: 2005-04-05, 接受日期: 2005-05-28

1.2 重组病毒的构建

1.2.1 转移载体的构建. 以含 AcMNPV *Bgl* II -C 片段质粒为模板, 利用引物 P1F 和 P1R (序列见表 1). PCR 合成带有 270 bp 启动子及完整编码区的多角体蛋白基因 (*ph*, 1 008 bp), 基因两端分别引入 *Sph* I 和 *Xho* I 酶切位点. PCR 反应条件为: 58℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 1 min, 20 个循环. 产物回收后连到 pGEM-T easy (Promega 公司) 载体上测序鉴

定, 然后以 *Sph* I 和 *Xho* I 酶切回收 *ph* 基因并连接到 pFast BAC DUAL (Invitrogen 公司) 的相应位点上得到 pFBD-*ph*. 以 *Xba* I 和 *Bgl* II 从质粒 pHSP70PLVI+CAT 上酶切得到 hsp70 启动子, 以 *Bam*H I 和 *Pst* I 从质粒 pFast BAC HTa-eGFP-actin 上酶切得到融合基因 eGFP-actin, 然后将 hsp70 启动子和融合基因 eGFP-actin 同时克隆到 pFBD-*ph* 的 *Xba* I、*Pst* I 位点上得到 pFBD-*ph*/70GA.

Table 1 The primers used in this paper

Name	Sequence	Definition
AF	CCCAAGCTT ATGTGTGACGAAGAAGTT	To synthesize and detect actin gene. The initiation and termination codons are in bold. The PCR product will be 1 131 bp
AR	AACTGCAG TTAGAAGCACTTGC GGT	
GF	GGGGTACCA TG GTGAGCAAGGGCGAGGA	To detect eGFP gene. The initiation and termination codons are in bold. The PCR product will be 717 bp
GR	GCTCTAGAT TA CTTGTACAGCTCGTCCA	
M13F	CAGGAAACAGCTATGAC	To detect the recombinant virus, provided by Invitrogen
M13R	GTAAACGACGGCCAGT	
P1F	GGCTCGAGCCGGATTAACAT	For amplification of <i>ph</i> gene with the 270 bp promoter (1 008 bp). Two restriction sites <i>Sph</i> I and <i>Xho</i> I (in italic) were introduced for cloning. The termination codon of <i>ph</i> is in bold
P1R	GGGCATGCT TA ATACGCCGG	
P2F	GGGGTCGACAT GC CGGATTATTCATACCGT	For amplification and detection of <i>ph</i> gene without promoter (738 bp). The initiation and termination codons are in bold.
P2R	GGGGCATGCT TA ATACGCCGGACCAGTGAA	

1.2.2 重组 Bacmid 的构建. 利用 AcMNPV Bac-to-Bac 系统, 根据产品说明书构建重组 Bacmid (Invitrogen 公司): 分别用 pFBD-*ph* 和 pFBD-*ph*/70GA 质粒转座含有 helper 与 AcMNPV Bacmid 的大肠杆菌 DH10B 感受态细胞, 转座产物以卡那霉素、庆大霉素和四环霉素三种抗生素, 并辅以蓝白斑筛选, 挑选三抗平板上的白色菌落, 得到含有 *ph* 以及含有 *ph* 和 hsp70-eGFP-actin 的两种重组 AcMNPV Bacmid: Ac-*ph* 与 Ac-*ph*/70GA. 提取重组 Bacmid DNA 进行 PCR 鉴定, 所用引物为 M13 上下游引物 (M13F 和 M13R, 序列见表 1).

1.2.3 重组病毒的获得和 PCR 鉴定

Ac-*ph* 与 Ac-*ph*/70GA Bacmind DNA 利用脂质体分别转染 Sf9 细胞, 具体操作过程根据产品说明书进行 (Invitrogen 公司). 以绿色荧光和多角体的出现判断重组病毒的产生. 重组病毒 vAc-*ph* 和 vAc-*ph*/70GA (*MOI*=0.1) 感染 Sf9 细胞扩增病毒, 通过终点稀释法测定病毒滴度^[15], -80℃ 保存备用.

提取病毒基因组 DNA, 分别利用引物 AF/AR、GF/GR、P1F/P1R 和 P2F/P2R (引物序列见表 1) 进行 PCR 鉴定以确定重组病毒构建是否正确.

1.3 重组病毒生长特性比较

分别用病毒 AcMNPV、vAc-*ph*/70GA 以 *MOI* = 5 感染 Sf9 细胞, 取感染后 12、24、36、48、72 和 96 h 的上清, 测定其滴度, 绘制各病毒生长曲线^[16].

1.4 重组病毒粒子形态发生的观察

分别用病毒 vAc-*ph* 和 vAc-*ph*/70GA (*MOI*=10) 分别感染 Sf9 细胞, 取感染后 72 h 的细胞固定切片, 以透射电子显微镜 (H-7000FA, 日立公司) 观察细胞超薄切片^[16].

1.5 转录分析

病毒感染 Sf9 细胞 (35 mm 培养皿) 后, 分别于 12、24、48 和 72 h 收集受染细胞, 利用 Trizol 试剂提取总的 RNA, 方法参照产品说明书. 总 RNA 充分溶解于 8 μ l 无 RNase 酶的去离子水中,

DNA消化处理(参照无 RNase 的 DNase 使用说明书). 然后加入 Oligo(dT)₁₅ 和 M-MLV 反转录酶等进行反转录, 具体步骤及体系参照产品说明书. 反转录产物用 *ph* 上下游引物 P2F 和 P2R 进行 PCR 反应.

2 结 果

2.1 重组病毒的鉴定和感染实验

PCR合成了带有启动子(270 bp)的多角体蛋白基因 *ph*, 该基因首先克隆到 pGEM-T easy 载体上, 获得重组质粒 pT-*ph*, 序列测定完全正确. 以 *Sph* I 和 *Xho* I 酶切 pT-*ph*, 回收 1.0 kb 的片段克隆到 pFast BAC DUAL 的相同位点得到供体质粒 pFBD-*ph*, 其中 *ph* 基因受自身的启动子控制, 同时其上游还有 *p10* 启动子. 在 pFBD-*ph* 基础上构建了供体质粒 pFBD-*ph*/70GA, *hsp70* 启动子控制的 eGFP-actin 基因位于 *ph* 启动子下. 酶切鉴定 pFBD-*ph* 和 pFBD-*ph*/70GA 构建正确.

分别以 pFBD-*ph* 和 pFBD-*ph*/70GA 质粒转座含有 helper 与 AcMNPV Bacmid 的大肠杆菌 DH10B, 得到只表达 *ph* 与同时表达 *ph* 和 eGFP-actin 融合基因的两种重组 AcMNPV Bacmid: Ac-*ph* 与 Ac-*ph*/70GA, M13F 和 M13R 引物进行 PCR 鉴定, Ac-*ph* Bacmid 产生 3.3 kb 条带, Ac-*ph*/70GA Bacmid 产生 5.6 kb 条带, 表明目的片段插入的位置正确.

Bacmid DNA 分别转染 Sf9 细胞得到重组病毒 vAc-*ph* 和 vAc-*ph*/70GA. 提取重组病毒基因组 DNA, 分别用不同的引物进行 PCR 鉴定(图 1): vAc-*ph*/70GA 利用 AF/AR 和 GF/GR 进行 PCR 分别产生 1.13 kb 和 0.72 kb 的带, 说明 vAc-*ph*/70GA 中 actin 和 eGFP 的存在; 利用 P1F/P1R 和 P2F/P2R 进行 PCR, vAc-*ph*/70GA 和 vAc-*ph* 都分别产生 1.0 kb 和 0.74 kb 的带, 表明 vAc-*ph*/70GA 和 vAc-*ph* 中都包含有完整启动子的 *ph* 基因. PCR 结果说明重组病毒构建正确.

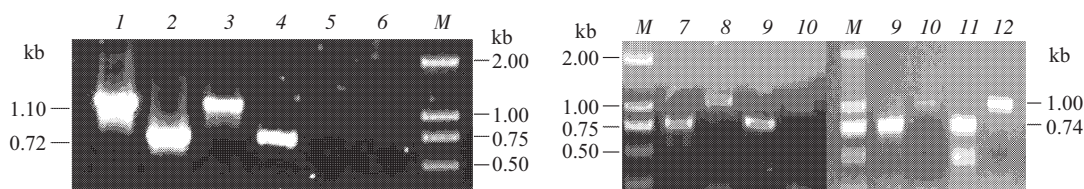


Fig.1 Identification of actin, eGFP and polyhedrin in the recombinant viral genomes

The exist of actin, eGFP and polyhedrin genes were detected by PCR with different pair of primers (Table 1). For actin with AF and AR primers: positive control (1), Ac- *ph*/70GA (3) and AcMNPV (5). For eGFP with GF and GR primers: positive control (2), Ac- *ph*/70GA (4) and AcMNPV (6). For polyhedrin with P2F and P2R: vAc-*ph*/70GA (7), AcMNPV (9) and vAc-*ph* (11). For polyhedrin PCR with P1F and P1R: vAc-*ph*/70GA (8), AcMNPV (10) and vAc-*ph* (12); M: DL2000 marker.

2.2 感染实验

重组病毒 vAc-*ph*/70GA 感染 Sf9 细胞后, 从早期(12 h)到晚期(96 h)细胞内均可见有绿色荧光出现, 表明 *hsp70* 启动子启动的融合基因 eGFP-actin 被全程表达(图 2c), 但感染细胞不能产生多角体(图 2d). 而对照重组病毒 vAc-*ph* 转染的细胞内能产生多角体, 且与野生型 AcMNPV 感染的 Sf9 细胞中所产生的多角体的数量和形状相似(图 2a 和 b), 这说明所克隆的 *ph* 基因应该能正常表达.

2.3 超微结构分析

取感染晚期 Sf9 细胞做超薄切片电镜观察, 重组病毒 vAc-*ph*/70GA 在晚期能够形成正常的、由囊膜包括的 ODV(occlusion derived virus), P10 结

构及多角体膜也正常形成, 但是未见有多角体的形成或明显的多角体蛋白的积累(图 3).

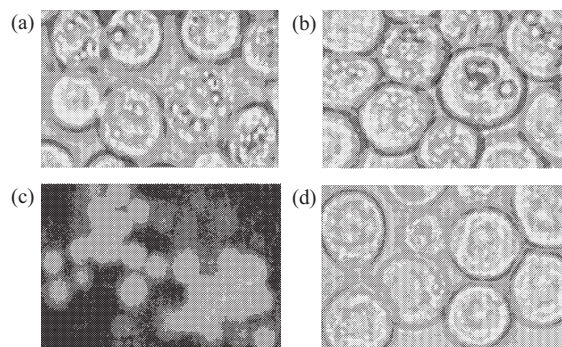


Fig.2 Sf9 cells infected with AcMNPV (a), vAc-*ph* (b) and vAc-*ph*/70GA (c, d) (72h.p.i.)

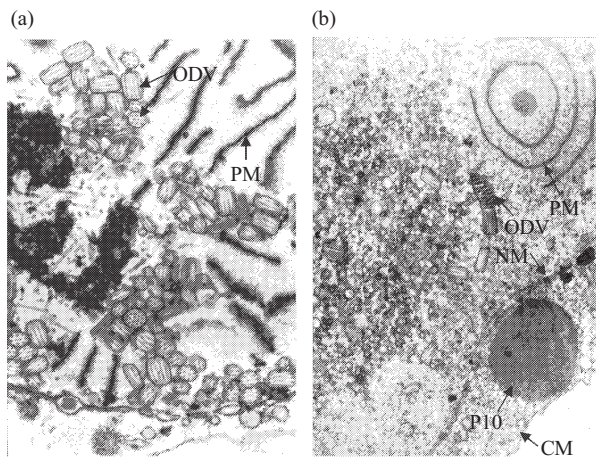


Fig.3 Electron picture of infected Sf9 cell by vAc-ph/70GA (96h.p.i.)

PM: membrane of polyhedra; CM: cell membrane; NM: nuclear membrane; ODV :occlusion derived virus; P10: p10 protein; (a) 15 000 $\times$, (b) 12 000 $\times$.

2.4 重组病毒 vAc-ph 和 vAc-ph/70GA 多角体基因表达的分析

由于没有观察到多角体的形成, 所以我们检测了多角体蛋白的表达情况. 对感染后 72 h 的 Sf9 细胞总蛋白进行 SDS- 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分析, 结果发现重组病毒 vAc-ph/70GA 感染的细胞内没有多角体蛋白的产生 (图 4). 于是我们进一步分析了 vAc-ph/70GA 感染

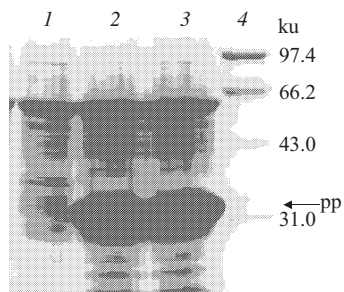


Fig.4 SDS-PAGE analysis of infected Sf9 cells (72h.p.i.)

1: Sf9 cells infected with vAc-ph/70GA; 2: Sf9 cells infected with AcMNPV; 3: Sf9 cells infected with vAc-ph; 4: protein molecular mass marker; PP: polyhedra protein.

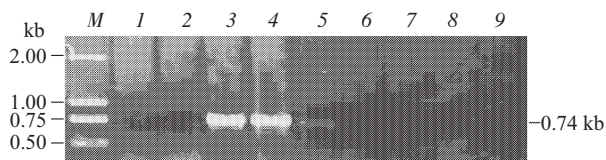


Fig.5 RT-PCR for polyhedrin

M: DL2000 marker; 1: Sf9 cells; 2~5: 12, 24, 48 and 72 h of Sf9 cells infected with AcMNPV; 6~9: 12, 24, 48 and 72 h of Sf9 cells infected with vAc-ph/70GA.

的 Sf9 细胞中多角体基因的转录情况. 从 RT-PCR 结果我们可以看到, vAc-ph/70GA 感染的 Sf9 细胞中多角体基因没有发生转录 (图 5). 说明肌动蛋白基因的全程连续表达抑制了多角体蛋白基因的转录.

2.5 重组病毒的生长特性

为了分析肌动蛋白的表达是否会影响到病毒复制的早期事件, 我们比较了 vAc-ph/70GA 和 AcMNPV ($MOI=5$) 感染 Sf9 细胞的生长曲线 (图 6). 从图 6 中我们可以看出, 重组病毒 vAc-ph/70GA 与野生型 AcMNPV 的生长特性没有明显的差别, 表明融合基因 eGFP-actin 的早期表达没有影响出芽型病毒粒子对细胞的感染能力.

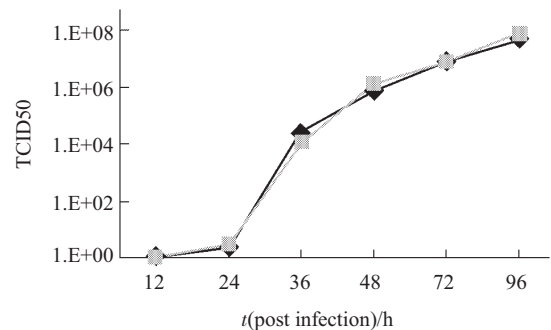


Fig.6 The growth curve of vAc-ph/70GA and AcMNPV ($MOI=0.5$)

◆◆: AcMNPV; ■■: vAc-ph/70GA.

3 讨 论

本研究利用 AcMNPV Bac-to-Bac 系统构建了表达 eGFP 和 actin 融合基因, 同时表达多角体基因的重组病毒 vAc-ph/70GA. 由于在重组病毒 vAc-ph/70GA 的感染过程中始终观察到绿色荧光, 这说明 hsp70 启动子实现了肌动蛋白的全程表达. 从野生型病毒 AcMNPV 和重组病毒 vAc-ph/70GA 生长曲线的比较结果 (图 6) 可以看到两者之间并无明显差异, 表明肌动蛋白表达没有影响到病毒复制的早期事件以及病毒对细胞的感染能力. 同时电镜超薄切片结果表明, 重组病毒 vAc-ph/70GA 感染的 Sf9 细胞在晚期能够形成正常的、由囊膜包括的 ODV. 这些实验结果说明, 肌动蛋白的全程表达并没有影响到两种形态病毒粒子的包装. 作为对照的重组病毒 vAc-ph 感染 Sf9 细胞后产生的多角体的数量和形状与野生型 AcMNPV 都相似, 说明两种重组病毒中的 *ph* 基因应该是正常的, 而重组病毒 vAc-ph/70GA 感染 Sf9 细胞后并不能形成多角体, 因此可能是肌动蛋白基因在晚期的表达干扰了多角

体形成, 这与前人的报道一致^[17]. SDS-PAGE 分析表明 vAc-ph/70GA 感染 Sf9 细胞后没有多角体蛋白的表达, 进一步的 RT-PCR 分析表明也没有多角体蛋白基因的转录. 这些结果揭示晚期表达的肌动蛋白基因对多角体的影响有可能发生在基因转录水平上.

在杆状病毒感染的晚期, 肌动蛋白的量明显下降 (陈巨星. 华中师范大学硕士学位论文, 2001, 5), 并从细胞核中外排^[14], 而且细胞肌动蛋白基因表达的关闭与病毒多角体基因和 *p10* 基因的超量表达有关^[17]. 本研究的结果表明, 晚期表达的外源肌动蛋白抑制了多角体基因的转录和表达, 从而导致多角体不能正常产生. 实际上, 在杆状病毒感染的晚期, 肌动蛋白从细胞核中外排, 肌动蛋白的转录关闭, 且可能通过病毒编码的 V-cath 蛋白水解肌动蛋白而使细胞内肌动蛋白下降, 这种变化可能是为 *ph* 的表达和多角体的形成提供环境条件, 以适应多角体蛋白的表达与多角体的形成和释放的一种机制^[18,19]. 但肌动蛋白负调控多角体蛋白基因转录的分子机制尚待进一步研究. 肌动蛋白干扰多角体形成这一现象, 似乎可以解释受染昆虫幼虫的中肠上皮细胞中只产生少量或不产生多角体的现象^[20], 因为中肠上皮细胞中含有大量的肌动蛋白.

参 考 文 献

- Ploubidou A, Way M. Viral transport and the cytoskeleton. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, **13** (1): 97~105
- Burke E, Dupuy L, Wall C, *et al.* Role of cellular actin in the gene expression and morphogenesis of human respiratory syncytial virus. *Virology*, 1998, **252** (1): 137~148
- Gupta S, Bishnu P D, Drazba J A, *et al.* Involvement of actin microfilaments in the replication of human parainfluenza virus type 3. *J Virol*, 1998, **72** (4): 2655~2662
- Charlton A, Volkman L E. Sequential rearrangement and nuclear polymerization of actin in baculovirus-infected *Spodoptera frugiperda* cells. *J Virol*, 1991, **65** (3): 1219~1227
- Charlton C A, Volkman L E. Penetration of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus nucleocapsids into IPLB sf21 cells induces actin cable formation. *Virology*, 1993, **197** (1): 245~254
- Roncarati R, Knebel-Morsdorf D. Identification of the early actin rearrangement inducing factor gene, *arif-1*, from *Autographa californica* multicapsid nuclear polyhedrosis virus. *J Virol*, 1997, **71** (70): 7933~7941
- Dreschers S, Roncarati R, Knebel-Morsdorf D. Actin rearrangement-inducing factor of baculoviruses is tyrosine phosphorylated and colocalizes to F-actin at the plasma membrane. *J Virol*, 2001, **75** (8): 3771~3778
- Volkman L E, Salma N T. Nuclear F-actin: a functional component of baculovirus-infected Lepidopteran cells?. *J Cell Sci*, 1992, **103** (1): 15~22
- Oppenheimer D I, Volkman L E. Proteolysis of p6.9 induced by Cytochalasin D in *Autographa californica* M nuclear polyhedrosis virus-infected cells. *Virology*, 1995, **207** (1): 1~11
- Ohkawa T, Volkman L E. Nuclear F-actin is required for AcMNPV nuclear nucleocapsid morphogenesis. *Virology*, 1999, **264** (1): 1~4
- Kasman L M, Volkman L E. Filamentous actin is required for lepidopteran nucleopolyhedrovirus progeny production. *J Gen Virol*, 2000, **81** (7): 1881~1888
- Wei N, Volkman L E. Hyperexpression of baculovirus polyhedrin and p10 is inversely correlated with actin synthesis. *Virology*, 1992, **191** (1): 42~48
- Talhok S N, Volkman L E. *Autographa californica* M nuclear polyhedrosis virus and Cytochalasin D: antagonists in the regulation of protein synthesis. *Virology*, 1991, **182** (2): 626~634
- 李小青, 周蕊, 贾蕴莉, 等. 肌动蛋白在 AcMNPV 向细胞外运输过程中作用的初步研究. *中国病毒学*, 2004, **19** (6): 632~636
- Li X Q, Zhou R, Jia Y L, *et al.* *Virologica Sinica*, 2004, **6**: 632~636
- O'Reilly D R, Miller L K, Luckow V A. *Baculovirus expression vectors: A Laboratory Manual*. New York: W H Freeman and Company, 1992: 132~135
- King L A, Possee R D. *The baculovirus expression system: A Laboratory Guide*. London: Chapman & Hall, 1992
- Volkman L E, Kathleen S, Vissarion A, *et al.* Overexpression of actin in AcMNPV-infected cells interferes with polyhedrin synthesis and polyhedra formation. *Virology*, 1996, **225** (2): 369~376
- Lanier L M, Jeffrey M S, Volkman L E. Actin binding and proteolysis by the baculovirus AcMNPV: the role of virion associated V-CATH. *Virology*, 1996, **216** (4): 380~388
- Hom L G, Ohkawa T, Ttudeau D, *et al.* *Autographa californica* M nucleopolyhedrovirus proV-CATH is activated during infected cell death. *Virology*, 2002, **296** (2): 212~218
- Flipsen J T M, van Lent J W M, Goldbach R W, *et al.* Expression of polyhedrin and p10 in the midgut of AcMNPV-infected *Spodoptera exigua* larvae: an immunoelectron microscopic investigation. *J Invertebr Pathol*, 1993, **61** (1): 17~23

Actin and Production of AcMNPV Polyhedra*

JIA Yun-Li^{1,2)}, YU Ze-Hua^{2)**}, CHEN Xin-Wen^{1)**}

⁽¹⁾State Key Laboratory of Virology, Wuhan Institute of Virology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430071, China;

⁽²⁾Entomology Institute, College of Life Science, Central China Normal University, Wuhan 430079, China)

Abstract Studies have shown that host actin is essential for baculovirus replication and assemblage. In order to further elucidate the function of actin in the late and very late infection stages, a recombinant virus vAc-ph/70GA were constructed using Bac-to-Bac system, in which eGFP-actin fusion gene under control of *hsp70* promoter and polyhedrin gene (*ph*) with its' own promoter were inserted. vAc-ph, which only contains *ph*, was also constructed as control. After vAc-ph/70GA infected Sf9 cells, actin was expressed persistently. However, there were no polyhedra, while the control virus vAc-ph did produce polyhedra. Further analysis such as SDS-PAGE and RT-PCR did not detect the transcription and expression of polyhedrin after vAc-ph/70GA infected Sf9 cells, indicating that the late expression of actin inhibit polyhedra formation. Expression of actin, however, did not change the viral infectivity. It can be concluded that the persistently expression of actin during late stage of baculovirus infection inhibit the polyhedrin expression, and then the formation of polyhedra. Here, some results were shown by electro microscopy, SDS-PAGE and RT-PCR with vAc-ph/70GA.

Key words AcMNPV, actin, polyhedra, polyhedrin

*This work was supported by The Special Funds for Major State Basic Research of China (2003CB1104) and The National Nature Science Foundation of China (30325002,39870039).

**Corresponding author .

CHEN Xin-Wen, Tel: 86-27-87199106, E-mail: chenxw@pentium.whiov.ac.cn

YU Ze-Hua, Tel: 86-27-67867226, E-mail: yuzehua@hotmail.com

Received: April 5, 2005 Accepted: May 28, 2005