

细小病毒衣壳蛋白功能研究进展

王心舞¹, 冷雪¹, 刘东旭¹, 杜锐^{2*}

(1. 吉林农业大学动物科学与技术学院, 吉林 130118; 2. 吉林农业大学研究生院, 吉林 130118)

[收稿日期] 2016-09-14 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2017) 01-0057-06 [中图分类号] S852.659.2

[摘要] 细小病毒是目前为止发现的最小的单股 DNA 病毒, 在自然界分布极广并与多种疾病相关。该病毒衣壳中主要包含三种蛋白: VP1、VP2、VP3, 这些衣壳蛋白参与了病毒感染的整个过程。VP1 通过核定位信号(NLS)介导病毒感染性, 协助病毒完成核内定位。VP2 经“反受体”与细胞受体相互作用促进病毒进一步内化, 与此同时 VP1 与 VP2 N' 末端共同作用完成核转运。裂解蛋白 VP3 仅存在于细小病毒科少数成员中, 其功能未被完全确定, 猜测可能是衣壳蛋白骨架。该病毒对外界理化因素有极强的抵抗力, 如酸或热处理, 甚至能逃避模式识别受体(PRRS)识别。通过对细小病毒感染过程中衣壳蛋白的作用及其在疾病治疗中的应用进行系统的总结及讨论, 以期对相关科研工作者提供参考。

[关键词] 细小病毒; 衣壳蛋白; 功能; 病毒感染

Research Progress on the Function of Capsid Protein in Parvovirus

WANG Xin-wu¹, LENG Xue¹, LIU Dong-xu¹, DU Rui^{2*}

(1. College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Jinlin 130118, China;

2. College of Graduate, Jilin Agricultural University, Jinlin 130118, China)

Abstract: Parvovirus is smallest single strand DNA virus which widely spreaded in nature and related to many kinds of diseases. The virus capsid mainly contains three proteins: VP1, VP2 and VP3 which involved in the whole process of the viral infection. VP1 mediaes virus infectivity through nuclear localization signal (NLS), and assists in the completion of nuclear localization. VP2 interacts with the virus receptor via the anti-receptor, which promotes the internalization of virus, at the same time, the VP1 and VP2 N' end co-acting to complete the nucleus translocation. Additionally, a cleavage protein VP3 exists only in several members of the parvoviridae and its function is not fully determined. The virus has a strong resistance to the environment, such as acid or heat treatment, and even to escape pattern recognition receptors (PRRS) recognition. The role of each capsid protein in the process of virus infection and its application in the treatment of diseases are summarized and discussed systematically to provide reference for the related scientific researchers.

Key words: parvovirus; capsid proteins; functions; viral infection

作者简介: 王心舞, 硕士研究生, 从事经济动物疫病的研究。

通讯作者: 杜锐。E-mail: durui197107@sian.com

细小病毒可以感染鸟类及哺乳动物,病毒在细胞核内增殖,某些细小病毒(如:腺病毒、疱疹病毒)需要辅助病毒的辅助才能增殖^[1-2]。另一些细小病虽然能自行复制,但必须依赖有丝分裂过程中的聚合酶。细小病毒通常能凝集红细胞,但小鹅瘟病毒(Goose parvovirus GPV)不能凝集红细胞,仅能凝集黄牛精子。根据宿主特异性细小病毒科可分为两个亚科:细小病毒亚科(Parvovirinae)和浓核病毒亚科(Densovirinae),前者的宿主主要是脊椎动物,后者的是节肢动物。2014年国际病毒分类委员会将该科病毒重新分类,现被分为8个属:Amdoparvovirus、Aveparvovirus、Bocaparvovirus、Copiparvovirus、Dependoparvovirus、Erythroparvovirus、Protoparvovirus、Tetraparvovirus^[3]。其中Erythroparvovirus属成员人类细小病毒B19(Human parvovirus B19, B19),能引起幼儿一系列严重的自身免疫性疾病,孕期感染会导致胎儿水肿、流产或先天性感染^[4];Dependoparvovirus属成员腺联病毒(Adeno-associated viruses AAVs)是一类无致病性、复制缺陷型病毒,在动物中最常见症状是肠胃炎和腹泻^[5-6]。AAV有十二个不同的血清型和100多个重组物种,需辅助病毒辅助才能有效复制^[7]。

细小病毒衣壳蛋白免疫原性特殊,在疫苗研制中有很大潜力。近年来,有研究用杆状病毒表达系统生产病毒样颗粒(virus-like particles, VLPs),产生的VLPs与天然病毒免疫原性相似,可诱导强烈而特异的免疫反应,可用于病毒功能的进一步研究^[8-9]。目前关于该病毒样颗粒的研究很多,但是都没有阐明病毒感染过程中衣壳蛋白的作用。通过对该病毒基因组、编码蛋白、病毒感染中各个衣壳蛋白的作用进行总结,并对病毒衣壳蛋白相关免疫特性的应用研究进行讨论,推测病毒与宿主之间相互作用的可能机制。

1 细小病毒的基因组及其编码蛋白

细小病毒无囊膜,直径约18~26 nm,二十面体对称,衣壳由32个直径为3~4 nm的颗粒构成,基因组大小约为5 kb,其两端回文结构形成反向末端重复序列(inverted terminal repeats, ITR)进一步组

装成不同形状的发夹结构(形状取决于病毒种类)。部分细小病毒基因组主要编码两个开放阅读框(open reading frames, ORF) ORF1和ORF2。ORF1编码非结构蛋白(NS) NS1、NS2、NS3, NS是控制病毒基因组复制的复制蛋白,可诱导宿主细胞产生细胞毒性,导致细胞凋亡。NS1蛋白具有多个复制相关区域,如DNA结合区、ATP结合区、解旋酶结构域和转录激活结构域。许多科研工作者尝试从细胞系中获得病毒颗粒,一直未成功。后来有研究在细胞系中加入了一个lac阻遏操作系统后成功克服了细胞毒性问题,实现了衣壳蛋白的严格调控。ORF2编码两个或三个组装病毒衣壳的病毒颗粒蛋白(VP),所有VP共用一个终止密码子。B19病毒、腺联病毒(AAV)、小鼠细小病毒(minute virus of mice, MVM)、犬细小病毒(canine parvovirus, CPV)、猪细小病毒(porcine parvovirus, PPV)、牛细小病毒(bovine parvovirus, BPV)和鹅细小病毒(Goose parvovirus, GPV)的VP1包含VP2的全部序列,但VP1 N'末端含140个氨基酸大小的额外片段,该片段包括一个磷脂酶A2(phospholipase A2, PLA2)结构域和一个核定位信号(nuclear localization signal, NLS)。VP2是衣壳蛋白的主要成分,高度保守。VP3是VP2蛋白翻译后出现的裂解产物,并不是所有的细小病毒均有该蛋白质。但也有细小病毒有多个开放阅读框,如Bocaparvovirus属成员有一个编码核蛋白NP1的ORF^[10-13]。虽然不同物种之间存在序列多样性,但是细小病毒属成员三维结构无明显差异,如B19、AAV、MVM^[14]、CPV、BPV及水貂阿留申病毒(Aleutian mink disease virus, AMDV)。

2 细小病毒衣壳蛋白在病毒感染中的作用

衣壳蛋白主要参与病毒吸附及进入宿主细胞、胞内转运和定位、病毒外排和诱导免疫应答。

2.1 VP1介导病毒感染性 大多数细小病毒在遇到极端化学性及物理性刺激(如热或酸)时VP1 N'末端从衣壳内部暴露到衣壳外侧,其中热刺激诱发VP1 N'末端暴露是一个不可逆的过程。衣壳蛋白VP1的构象变化及VP1末端暴露在病毒感染中发挥重要作用。有研究将B19衣壳蛋白VP1

N'末端与一个仅在红细胞谱系中介导内化的特殊区域 VP1u^[15] (VP1 unique region) 进行重组, 结果重组后的病毒能够被一种特异的单克隆抗体所识别, 而天然病毒不能被识别。天然 VP1u 热或酸处理后能与抗体结合, 该现象说明天然病毒及 VP1u 重组病毒主要的构象存在差异, 表明 B19 病毒 VP1u 肽类最初位于衣壳内部, 也有研究证实 B19 VP1 N'末端是在原代细胞受体附着后暴露^[16-17]。同时有研究表明 CPV 及 MVM 在内体转运过程中 VP1 N'末端暴露, 说明 VP1 的 N'末端最初存在于病毒衣壳中。用 AAV-2 能观察到 VP1 N'末端对感染性的直接影响, 突变实验也证实 VP1 的 N'末端直接影响病毒的感染性。在细胞质内注射野生型 AAV-2 导致低感染性, 随着 VP1 N'末端的暴露感染性增强, 说明 VP1 N'末端对细胞内病毒诱发感染十分必须。

VP1 的 NLS 是一个核定位信号, 协助病毒进入细胞核并完成进一步的核转运。有研究发现在 CPV VP1 蛋白的 N'末端 4 ~ 13 个碱基处存在一个典型的 NLS, 表明核转运过程是 ATP 依赖的, MVM 中也有 NLS。MVM VP1 N'末端区域由四个碱性氨基酸簇 BC1、BC2、BC3、BC4 组成, 突变及生化研究表明 BC1 和 BC2 极有可能参与核转运。细小病毒 BCs 的序列是高度保守的, 所以其它代表性细小病毒中的 BC(含有 NLS)也极有可能参与核转运。近年研究显示 PPV 与亲缘关系很近的其他细小病毒明显不同, PPV 除了一个活性 NLS, 还有一个新的核定位序列 (novel nuclear localization motif, NLM)^[18]。NLSs 位于 VP1 N'末端, 在感染的早期发挥作用。而其他的 NLS 是一种新型的 NLM, 在感染后期协助 VP2 蛋白三聚体靶向定位于细胞核。Bocaparvovirus 属 NLSs 与其他细小病毒相比存在某种独特的性能。有研究表明人类博卡病毒 NP1 具有非常规的 NLS 可向核运输 β -半乳糖苷酶融合蛋白, 这说明 NP1 在核转运中起作用。但是, ADV 缺少 NLS, VP1 结合 DNA 后病毒无法在核中有效复制。

大多数细小病毒 VP1 N'末端有一个分泌型磷

脂酶 A2 (secretory phospholipase A2, sPLA2s) 同源结构域, 它包含一个 sPLA2 催化位点和一个保守 Ca^{2+} 结合环, 但有些病毒无此结构。PLA2 是一种脂肪分解酶, 能够破坏细胞膜使病毒逃避溶酶体溶解。天然病毒 PLA2 存在于衣壳内部, 经热或 pH 处理后释放到衣壳外侧^[19]。VP1u 中保守氨基酸及周围一些非保守氨基酸均影响 PLA2 活性。PLA2 模式 B19 突变体能显著降低 PLA2 活性和病毒感染率, 表明 PLA2 在 B19 病毒生命周期中有重要作用。Deng 等^[20]证明 B19 感染时 PLA2 能够破坏细胞膜的完整性。用纯化的 VP1u 蛋白培养 UT7-EPO 细胞, 随 VP1u 蛋白用量的增加细胞形态随时间变化逐渐变化, 甚至死亡。VP1u 突变蛋白培养的细胞组及对照组并无变化^[21]。VP1 N'末端从衣壳中释放到衣壳外侧的过程中可观察到细胞形态及构象变化^[22]。那么在动物中该病毒感染过程是否与人类一样呢? MVM 的 PLA2 磷酸化活动也影响病毒从核内的释放过程。将 VP1u 突变株感染性克隆转染进 A9 细胞后 PLA2 活性和 MVM 病毒感染性均丧失^[23]。CPVs 中加入 PLA2 抑制剂孵育蛋白, CPVs 的感染性明显降低, 且感染期间内体膜通透性发生改变, 这些均表明 PLA2 活性是病毒有效感染所必需的。

2.2 VP2 介导受体识别及核转运 细小病毒感染细胞时, 病毒 VP2 提供“反受体”吸附到细胞受体表面, 并开始内化。应用 18Å 分辨率的冷冻电子显微镜观察发现 B19 VP2 三重轴存在凹陷, 能结合细胞受体的红细胞糖苷。AVV-2 中的硫酸肝素蛋白多糖是一种显性受体与 B19 共用同一受体 $\alpha 5\beta 1$ 。该受体与肝素结合后会导致 VP2 的构象发生变化: 三重轴突起顶端变平, 五重轴的顶端通道变宽^[24]。CPV VP2 三重轴存在明显顶端, 因此推测 VP2 表面一个结合区域位于三重轴之间, 其他的结合区域位于五重轴上。BPV 的 VP2 与细小病毒特性一致, 三重轴存在明显的突起, 表明存在一个潜在的受体识别位点。用 22Å 分辨率的冷冻电子显微镜观察 ADV VP2 的三维结构发现双重轴的凹陷参与细胞受体的识别, B19 VP2 N'末端有一个新的 NLS 可

以促进核转运, MVM VP2 N' 末端存在一个核输出信号(NES)^[25]。进一步的研究发现当温度达到一个特定高度, MVM VP2 N' 末端区域经五重轴由衣壳蛋白内侧转移到病毒表面^[26], 经过一系列的构象变化暴露 NLS 和 NLM, 与 VP1 共同作用形成一个三聚体, 协助 VP2 分子伴侣通过核孔复合体。在 MVM 病毒生命周期后期 VP2 N' 末端磷酸化, 效促进病毒向邻近细胞扩散^[27]。推测 VP2 N' 末端对病毒粒子从核中释放起重要作用。

2.3 VP3 可能是衣壳骨架 VP3 是一种裂解蛋白, 仅存在于细小病毒少数成员中, 且只在衣壳装配及病毒基因组包装后出现。MVM 胰蛋白酶消化实验发现这种蛋白水解反应仅在基因组完整的成熟病毒中发生, 虽然 VP1 与 VP3 具有相同的酶切位点, 但是不发生裂解。ADV 中也存在类似水解现象, 研究发现在 ADV 感染过程中或病毒衣壳单独表达时会产生一个大小为 26KDa 的蛋白, 该蛋白是 VP1 与 VP2 的裂解产物。AAV 中该蛋白为 23 kD, 又被称为组件激活蛋白(assembly-activating proteins, APP), 该蛋白通过促进 ORF2 组装 VP3 完成自身编码。当 APP 表达时, 一些 VP3 转化成核, 形成衣壳^[28], 表明 APP 能激活 VP 蛋白向核仁的转运, 而且在衣壳包装中必不可少。所以推测 VP3 负责衣壳装配及病毒粒子的稳定性。

鸟类、鹅类、鸭类细小病毒 VP3 是显性蛋白, 能引起明显的免疫反应。重组 GPV 衣壳蛋白的表达及纯化适合在体内环境完成, 易感鹅体内所有的 VLPs 均能诱导强烈的免疫反应, 但是 VLPs - VP2 及 VLPs - VP3 诱导产生的中和抗体浓度比 VLPs - VP1 高。目前关于 VP3 蛋白的研究报道很少, 其在细小病毒生命周期中的作用也有待进一步考证。

3 细小病毒衣壳蛋白相关免疫特性的应用研究

随着细小病毒衣壳蛋白功能研究的不断深入, 衣壳蛋白相关免疫特性在疫苗研制中的相关应用越来越多。有研究人员依据细小病毒类似病毒(小核糖核酸病毒科无囊膜病毒)应用 RNAi 对病毒衣壳进行重组, 依据病毒蛋白 VP1 介导病毒感染性, 尝试将 RNAi 技术应用于细小病毒衣壳蛋白 VP1

重组, 结果表明重组病毒接种细胞及小鼠能干扰其 VP1 结构蛋白的功能, 起到一定的保护效果^[29]。主要抗原决定簇位于衣壳表面, Langevel 等^[30]用免疫荧光法分析结构蛋白的 B 细胞表位, 成功获得了 CPV 多肽疫苗。

病毒衣壳蛋白 VP2 是主要的结构蛋白, 占整个病毒粒子的 90%, 介导受体识别及核转运, 衣壳表面含有 B 细胞抗原表位, 能诱导机体产生特异性中和抗体, 并自我组装成病毒样颗粒, VP2 上几个碱基及氨基酸可影响病毒生物学特性, 甚至导致其宿主及抗原性变化。VP2 在细小病毒疫苗研制中应用广泛, 有研究者利用杆状病毒表达系统表达 MEV VP2 蛋白, 尝试构建 MEV 基因工程亚单位疫苗。Hu 等^[31]构建了表达 FPV 的 VP2 蛋白的重组痘病毒、Songtao Yang 等^[32]构建了表达 FPV VP2 蛋白的重组犬 2 型腺病毒尝试构建细小病毒基因工程活载体疫苗。近年也有研究利用细小病毒病毒 VP2 在原核或真核表达系统中表达获得的 VLPs, 该蛋白既具有病毒的免疫原性, 又能模拟天然病毒感染途径。有研究将 CPV 的 VLPs - VP2 在大肠杆菌中表达产生的病毒样粒子(VLPs)与天然病毒相比, T 细胞免疫应答及产生的中和抗体滴度仅存在细微差异^[33], 从而证实 CPV 病毒样颗粒与天然病毒特性密切相关, 可用于疫苗的研制。有人利用染料分子衍生病毒衣壳上的易感赖氨酸, 然后同时存在有转铁蛋白受体(Transferrin receptor, TfR)表达及没有转铁蛋白受体表达细胞系中培养, 发现仅在 TfR 表达的细胞系中存在 CPV 病毒样颗粒的内化^[34], 表明 CPV 病毒样颗粒可以作为靶向物质发挥作用, 证实了 VP2 蛋白与细胞受体表面转铁蛋白(TfR)特异性结合可实现 VLPs 的靶向定位或转运。

近年来有许多用 AAVs 衣壳作载体的研究, 有研究表明重组三级酪氨酸突变体 AAV - 2 载体能显著提高基因转导效率, 大约是野生型基因转导效率的三倍^[35], 因此, 可以在最大程度减少治疗剂量的基础上获得最佳的保护水平。Giridhara 等^[36]发现 AAV 衣壳载体能激活 NF - κ B 通路, 并展望其

在基因治疗中的应用。Mirta 等^[37]构建了一个包含肿瘤靶向序列片段的重组 AAV 衣壳载体,重组突变体基因在肿瘤细胞高效转导,在 293 T 细胞中转导效率低。但是,天然 AAV 能在 293T 细胞系中高效表达,该研究为体内靶向疫苗的研制奠定了基础。

4 结语

尽管细小病毒衣壳小且结构简单,但是衣壳中各个蛋白在病毒生命周期中都有重要作用。衣壳蛋白参与细胞识别、胞内通路、核转运甚至诱导免疫反应。本文总结了病毒感染中衣壳的作用,同时对病毒衣壳蛋白相关免疫特性的潜在应用进行了探讨及展望。近年来,关于细小病毒衣壳的研究越来越多,但是 VP3 的具体功能仍有待进一步探索。病毒分类法修订后细小病毒科中新增了很多新毒株,但是这些毒株的研究仍停留在生物信息学分析阶段。未来需要开展更多关于这些新毒株功能性的研究,尤其是病毒-宿主相互作用的研究,加强病毒和宿主之间的相互作用的机制的研究将有助于未来的治疗方法及疫苗的研制。

参考文献:

- [1] Buller R M, Janik J E, Sebring E D, *et al.* Herpes simplex virus types 1 and 2 completely help adenovirus - associated virus replication[J]. *Virol*, 1981, 40(1): 241 - 247.
- [2] Geoffroy M C, Salvetti A. Helper functions required for wild type and recombinant adeno - associated virus growth[J]. *Curr Gene Ther*, 2005, 5(3): 265 - 271.
- [3] Cotmore S F, Agbandje - McKenna M, Chiorini J A, *et al.* The family Parvoviridae[J]. *Arch Virol*, 2014, 159(5): 1239 - 1247.
- [4] De Jong E P, de Haan T R, Kroes A C, *et al.* Parvovirus B19 infection in pregnancy[J]. *Clin Virol*, 2006, 36(1): 1 - 7.
- [5] Decaro N, *Buonavoglia* C. Canine parvovirus - a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c[J]. *Vet Microbiol*, 2012, 155(1): 1 - 12.
- [6] Kailasan S, Halder S, Gurda B, *et al.* Structure of an enteric pathogen, bovine parvovirus[J]. *Virol*, 2015, 89(5): 2603 - 2614.
- [7] Gao G, Vandenberghe L H, Alvira M R, *et al.* Clades of Adeno - associated viruses are widely disseminated in human tissues[J]. *Virol*, 2004, 78(12): 6381 - 6388.
- [8] Antonis A F, Bruschke C J, Rueda P, *et al.* A novel recombinant virus - like particle vaccine for prevention of porcine parvovirus - induced reproductive failure[J]. *Vaccine*, 2006, 24(26): 5481 - 5490.
- [9] Ju H, Wei N, Wang Q, *et al.* Goose parvovirus structural proteins expressed by recombinant baculoviruses self - assemble into virus - like particles with strong immunogenicity in goose[J]. *BBRC*, 2011, 409(1): 131 - 136.
- [10] Babkin I V, Tyumentsev A I, Tikunov A Y, *et al.* A study of the human bocavirus replicative genome structures[J]. *Virus Res*, 2015, 195: 196 - 202.
- [11] Jiang Y H, Xiao C T, Yin S H, *et al.* High prevalence and genetic diversity of porcine bocaviruses in pigs in the USA, and identification of multiple novel porcine bocaviruses[J]. *Gen Virol*, 2014, 95(Pt 2): 453 - 465.
- [12] Kapoor A, Mehta N, Dubovi E J, *et al.* Characterization of novel canine bocaviruses and their association with respiratory disease[J]. *Gen Virol*, 2012, 93(Pt 2): 341 - 346.
- [13] Li L, Shan T, Wang C, *et al.* The fecal viral flora of California sea lions[J]. *Virol*, 2011, 85(19): 9909 - 9917.
- [14] Leisi R, Ruprecht N, Kempf C, *et al.* Parvovirus B19 uptake is a highly selective process controlled by vp1u, a novel determinant of viral tropism[J]. *Virol*, 2013, 87(24): 13161 - 13167.
- [15] Organtini L J, Allison A B, Lukk T, *et al.* Global displacement of canine parvovirus by a host - adapted variant: structural comparison between pandemic viruses with distinct host ranges[J]. *Virol*, 2015, 89(3): 1909 - 1912.
- [16] Quattrocchi S, Ruprecht N, Bonsch C, *et al.* Characterization of the early steps of human parvovirus B19 infection[J]. *Virol*, 2012, 86(17): 9274 - 9284.
- [17] Bonsch C, Zuercher C, Lieby P, *et al.* The globoside receptor triggers structural changes in the B19 virus capsid that facilitate virus internalization[J]. *Virol*, 2010, 84(22): 11737 - 11746.
- [18] Mani B, Baltzer C, Valle N, *et al.* Low pH - dependent endosomal processing of the incoming parvovirus minute virus of mice virion leads to externalization of the VP1 N - terminal sequence (N - VP1), N - VP2 cleavage, and uncoating of the full - length genome[J]. *Virol*, 2006, 80(2): 1015 - 1024.
- [19] Mitchell M, Nam H J, Carter A, *et al.* Production, purification and preliminary X - ray crystallographic studies of adeno - associated virus serotype 9[J]. *Acta Crystallogr Sect F: Struct Biol Cryst Commun*, 2009, 65(Pt 7): 715 - 718.

- [20] Deng X, Dong Y, Yi Q, *et al.* The determinants for the enzyme activity of human parvovirus B19 phospholipase A2 (PLA2) and its influence on cultured cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e61440.
- [21] Stahnke S, Lux K, Uhrig S, *et al.* Intrinsic phospholipase A2 activity of adeno-associated virus is involved in endosomal escape of incoming particles[J]. *Virology*, 2011, 409(1): 77-83.
- [22] Venkatakrishnan B, Yarbrough J, Domsic J, *et al.* Structure and dynamics of adeno-associated virus serotype 1 VP1 - unique N-terminal domain and its role in capsid trafficking[J]. *Virol*, 2013, 87(9): 4974-4984.
- [23] Farr G A, Zhang L G, Tattersall P. Parvoviral virions deploy a capsid-tethered lipolytic enzyme to breach the endosomal membrane during cell entry[J]. *PNAS*, 2005, 102(47): 17148-17153.
- [24] Levy H C, Bowman V D, Govindasamy L, *et al.* Heparin binding induces conformational changes in Adeno-associated virus serotype 2[J]. *Struct Biol*, 2009, 165(3): 146-156.
- [25] Sánchez-Martínez C, Grueso E, Carroll M, *et al.* Essential role of the unordered VP2 n-terminal domain of the parvovirus MVM capsid in nuclear assembly and endosomal enlargement of the virion fivefold channel for cell entry[J]. *Virology*, 2012, 432(1): 45-56.
- [26] Maroto B, Valle N, Saffrich R, *et al.* Nuclear export of the non-enveloped parvovirus virion is directed by an unordered protein signal exposed on the capsid surface[J]. *Virol*, 2004, 78(19): 10685-10694.
- [27] Miller C L, Pintel D J. Interaction between parvovirus NS2 protein and nuclear export factor Crm1 is important for viral egress from the nucleus of murine cells[J]. *Virol*, 2002, 76(7): 3257-3266.
- [28] Sonntag F, Schmidt K, Kleinschmidt J A. A viral assembly factor promotes AAV2 capsid formation in the nucleolus[J]. *PNAS*, 2010, 107(22): 10220-10225.
- [29] Chen W, Yan W, Du Q, *et al.* RNA interference targeting VP1 inhibits foot-and-mouth disease virus replication in BHK-21 cells and suckling mice[J]. *Virol*, 2004, 78(13): 6900-6907.
- [30] Langeveld J P, Casal J I, Vela C, *et al.* B-cell epitopes of canine parvovirus: distribution on the primary structure and exposure on the viral surface[J]. *Virol*, 1993, 67(2): 765-772.
- [31] Hu L, ESPOSITO J J, SCOTT F W. Racoon poxvirus feline panleukopenia virus VP2 recombinant protect cats against FPV challenge[J]. *Virology*, 1996, 218(1): 248-252.
- [32] Yang S, Xia X, Qiao J, *et al.* Complete protection of cats against feline panleukopenia virus challenge by a recombinant canine adenovirus type 2 expression VP2 from FPV [J]. *Vaccine*, 2008, 26(11): 1482-1487.
- [33] Xu J, Guo H C, Wei Y Q, *et al.* Self-assembly of virus-like particles of canine parvovirus capsid protein expressed from *Escherichia coli* and application as virus-like particle vaccine [J]. *Appl Microbiol Biot*, 2014, 98(8): 3529-3538.
- [34] Singh P, Destito G, Schneemann A, *et al.* Canine parvovirus-like particles, a novel nanomaterial for tumor targeting [J]. *Nanobiotechnology*, 2006, 4: 2.
- [35] Wang Z, Ma H I, Li J, *et al.* Rapid and highly efficient transduction by double-stranded adeno-associated virus vectors in vitro and in vivo[J]. *Gene Ther*, 2003, 10(26): 2105-2111.
- [36] Jayandharan G R, Aslanidi G, Martino A T, *et al.* Activation of the NF-kappaB pathway by adeno-associated virus (AAV) vectors and its implications in immune response and gene therapy [J]. *PNAS*, 2011, 108(9): 3743-3748.
- [37] Grifman M, Trepel M, Speece P, *et al.* Incorporation of tumor-targeting peptides into recombinant adeno-associated virus capsids[J]. *Mol Ther*, 2001, 3(6): 964-975.

(编辑:李文平)