

家蚕核型多角体病毒的互作同源重复区结合蛋白的鉴定

许裕敬, 赵书荻, 王星洋, 杨恬, 朱新宇, 吴小锋*

浙江大学 动物科学学院, 浙江 杭州 310058

许裕敬, 赵书荻, 王星洋, 杨恬, 朱新宇, 吴小锋. 家蚕核型多角体病毒的互作同源重复区结合蛋白的鉴定[J]. 生物工程学报, 2026, 42(1): 488-496.

XU Yujing, ZHAO Shudi, WANG Xingyang, YANG Tian, ZHU Xinyu, WU Xiaofeng. Identification of proteins binding to interacting homologous regions in *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2026, 42(1): 488-496.

摘要: 家蚕核型多角体病毒(*Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus, BmNPV)的同源重复区(homologous regions, *hrs*)已被证明可作为病毒转录的增强子以及 DNA 复制的起始位点。本研究旨在解析 BmNPV 基因组中 *hrs* 的蛋白结合特征及其对病毒的调控机制。通过 DNA pull-down 联合液相色谱-串联质谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)技术, 对 4 个高频互作的 *hrs* 区域(*hr1*、*hr2L*、*hr3*、*hr5*)进行了系统性分析, 分别成功鉴定到 215–612 个特异性结合蛋白。结果表明, 这些 *hrs* 区域不仅能结合大量宿主蛋白, 还与多个病毒蛋白存在相互作用, 其中 15 个蛋白可同时结合 4 个 *hrs* 区域。进一步分析显示, 67.3% 的结合蛋白具有多价结合特性, 表明 *hrs* 可能通过共享结合蛋白来协调病毒基因组的调控功能。本研究的结果不仅有助于阐明 BmNPV 的 *hrs* 在病毒调控方面的重要作用, 还为家蚕抗病毒策略的研发提供了新的靶点, 同时为深入理解杆状病毒与宿主的互作关系提供了理论参考。

关键词: 家蚕核型多角体病毒; 同源重复区; 高频互作; 结合蛋白

Identification of proteins binding to interacting homologous regions in *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus

XU Yujing, ZHAO Shudi, WANG Xingyang, YANG Tian, ZHU Xinyu, WU Xiaofeng*

College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, Zhejiang, China

Abstract: The homologous regions (*hrs*) of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus (BmNPV) have

资助项目: 国家自然科学基金(32172793); 政府间科技合作重点研发项目(2022YFE0124400)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32172793) and the Key Research and Development Project for Intergovernmental Technology Cooperation (2022YFE0124400).

*Corresponding author. E-mail: 22317033@zju.edu.cn

Received: 2025-07-10; Accepted: 2025-08-19; Published online: 2025-09-08

been demonstrated to function as transcriptional enhancers and initiation sites of DNA replication. This study aimed to elucidate the protein-binding characteristics of *hrs* in the BmNPV genome and their regulatory mechanisms in viral infection. Using DNA pull-down coupled with LC-MS/MS, we systematically analyzed four highly interactive *hrs* (*hr1*, *hr2L*, *hr3*, and *hr5*), successfully identifying 215–612 specific binding proteins for each region. Our findings revealed that these *hrs* not only bind to with numerous host proteins but also with multiple viral proteins. Notably, 15 proteins exhibited binding affinity to all four *hrs*, which suggested that these core interacting proteins may play pivotal roles in *hrs*-mediated regulation. Further analysis demonstrated that 67.3% of the binding proteins possessed multivalent binding properties, indicating that *hrs* may coordinate viral genome regulation through shared protein interaction networks. These results provide significant insights into the crucial regulatory functions of *hrs* in BmNPV infection, offer potential targets for developing antiviral strategies in silkworms, and contribute to a deeper understanding of baculovirus-host interactions at the molecular level.

Keywords: *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus; homologous regions; high-frequency interactions; binding proteins

杆状病毒是目前发现最早且研究较为深入的 DNA 病毒之一, 广泛分布于自然环境中。杆状病毒因其长度为 230–385 nm、直径为 30–60 nm 的形似杆状的核衣壳而得名。它是一类具有双链环状基因组的病毒, 基因组大小为 80–180 kb, 编码 90–180 个基因^[1]。家蚕核型多角体病毒 (*Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus, BmNPV) 是特征最明显的杆状病毒之一, 在其感染生活史中会形成 2 种病毒粒子, 即包涵体衍生型病毒粒子 (occluded virions, ODV) 和出芽型病毒粒子 (budded virions, BV)。当病毒包涵体溶解, 包涵体衍生型病毒会被释放到宿主的中肠, 从而引发病毒感染昆虫的中肠细胞, 在这些细胞中首先增殖产生的游离单个病毒就是出芽型病毒, BV 可以在整个宿主体内进行传播感染。在感染的晚期, 病毒在感染的细胞核中被包埋入包涵体, 并随着宿主的死亡被释放到环境中, 因此 ODV 负责进行个体间的传播^[2–5]。

同源重复区 (homologous regions, *hrs*) 是一种广泛存在于昆虫杆状病毒基因组中的增强子序列, 在苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒 (*Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus, AcMNPV) 的基因组中分布了 8 个 *hrs* 序列, 每

个 *hr* 序列中含有 2–8 个 30 bp 不完全回文重复单元^[6–7]。回文序列作为转录增强子来起作用且具有增强子共性。BmNPV 基因组序列的一个显著特点是在基因组的 5 个位置上存在 *EcoR* I 位点簇, BmNPV 基因组包含 7 个同源重复区, 包括 *hr1*、*hr2L*、*hr2R*、*hr3*、*hr4L*、*hr4R* 和 *hr5*^[8]。*hrs* 已被证明可作为杆状病毒转录的增强子以及 DNA 复制的起始位点^[9–13]。转录活化因子 IE-1 可以结合 *hrs* 从而激活杆状病毒早期基因和晚期基因的转录^[14–17]。

先前的研究表明, BmNPV 感染家蚕培养细胞后, 宿主基因组与病毒基因组之间会发生互作, 同时病毒基因组内部亦呈现活跃的顺式互作现象。值得注意的是, 作为 BmNPV 重要增强子元件的同源重复序列区域在这一过程中表现出尤为突出的互作频率^[18–19]。基于增强子通过募集转录因子调控基因表达的经典机制^[20–22], 本研究利用 DNA pull-down 技术结合质谱技术, 分别鉴定发生高频互作的 *hrs* (*hr1*、*hr2L*、*hr3*、*hr5*) 的结合蛋白, 并通过进一步分析, 筛选出能够与多个 *hrs* 发生结合的宿主与病毒蛋白。本研究系统性地鉴定了 *hrs* 区域的结合蛋白, 对于阐明病毒 *hrs* 高频互作的分子机制、深入理解杆状

病毒与宿主的互作关系等具有重要意义,同时也能够为家蚕抗病毒策略的研发提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与细胞、病毒

DNA pull-down kit、快速银染试剂盒购自武汉金开瑞生物工程有限公司, X-胶片购自广西巨星医疗器械有限公司, Universal DNA 纯化回收试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司。BmNPV 野生型病毒和家蚕卵巢细胞(*Bombyx mori* N, BmN)为本实验室保存。

1.2 细胞培养及病毒感染

BmN 细胞于含 3% 胎牛血清(Gibco 公司)的 SF900 II SFM (Gibco 公司)培养基中,置于 27 °C 培养。使用对数生长期的 BmN 细胞,以感染复数 (multiplicity of infection, MOI) =10 接种 BmNPV 病毒液,培养至感染后 72 h,收集细胞用于后续实验。

1.3 总蛋白提取

用预冷的 PBS 洗涤感染后的 BmN 细胞 2 次,加入含蛋白酶抑制剂[1 mmol/L 苯甲基磺酰氟(phenylmethylsulfonyl fluoride, PMSF)]、1×磷酸酶抑制剂、1 mmol/L 二硫苏糖醇

(dithiothreitol, DTT)的裂解液,冰上裂解 20 min,超声破碎后,4 °C、12 000 r/min 离心 10 min,收集上清即为总蛋白提取物。测定蛋白浓度后,对总蛋白进行 SDS-PAGE 分析,之后使用考马斯亮蓝染色法显示总蛋白。

1.4 *hr1*、*hr2L*、*hr3*、*hr5* 序列扩增与探针制备

以提取自实验室保存的 DH10B 大肠杆菌的杆粒为模板扩增序列探针,生成无生物素标记的竞争性探针作为对照组和 5'端添加生物素标记的探针为实验组,引物设计如表 1 所示。

使用上述引物进行 PCR 扩增,获得的 4 组生物素标记和无生物素标记的 DNA 探针粗产物,经琼脂糖凝胶电泳后,使用 DNA 纯化回收试剂盒回收目的片段,再次进行琼脂糖凝胶电泳来验证纯度与大小后,置于-20 °C 备用。

1.5 DNA pull-down

使用 DNA pull-down kit 进行 DNA pull-down 实验。在实验组和对照组 EP 管中分别加入 30 μL 链霉亲和素磁珠,用 500 μL Nucleic Dilution Buffer 洗涤 3 次。实验组中加入 200 pmol 生物素标记的 DNA 探针,在对照组中加入等量无生物素标记的竞争性探针,用 Nucleic

表1 本研究所用引物

Table 1 Primers used in this study

Primer name	Primer sequence (5'→3')	Modification
<i>hr1</i> -biotin F	ATGATATTATAATTTAAAATAACAAT	5'-biotin
<i>hr1</i> -cold F	ATGATATTATAATTTAAAATAACAAT	None
<i>hr1</i> R	TTTACACGTGCTTTCAATCTTAT	None
<i>hr2L</i> -biotin F	TGTCATCGCTTTAACTCGCTTTACGAGTA	5'-biotin
<i>hr2L</i> -cold F	TGTCATCGCTTTAACTCGCTTTACGAGTA	None
<i>hr2L</i> R	GACGAATTTTAATTCCTCATAGCAAAG	None
<i>hr3</i> -biotin F	ACATTTTATGTCGAAAACAAATGA	5'-biotin
<i>hr3</i> -cold F	ACATTTTATGTCGAAAACAAATGA	None
<i>hr3</i> R	AATGTTGTATAAAAATAACACTACA	None
<i>hr5</i> -biotin F	ACATTTTATGTCGAAAACAAATGA	5'-biotin
<i>hr5</i> -cold F	ATGTTAAAATTTATTGCCTAATATTATT	None
<i>hr5</i> R	AACGTCCGTTTCGATTCAA	None

Dilution Buffer 补至 500 μL , 室温孵育 2 h, 使用 500 μL Nucleic Dilution Buffer 洗涤 3 次。每个 EP 管中加入 450 μL 核蛋白提取物, 此处预留 100 μL 裂解液作为 Input 组。用 Protein Dilution Buffer 补至 1 mL, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育 16 h, 使用 1 mL Protein Dilution Buffer 严格洗涤 5 次。最后对复合物进行洗脱, 加入 100 μL Elution Buffer, 沸水浴 10 min, 取上清即为 pull down 产物, 分别标记对照组和实验组。分别加入 20 μL 6 \times Loading Buffer, 沸水浴变性。将预留的 Input 组加入 20 μL Loading buffer, 沸水浴 10 min。将实验组、对照组和 Input 组样品置于 -20°C 保存。

1.6 结合银染与液相色谱-串联质谱对结合蛋白进行鉴定

取 10 μL 洗脱产物进行 SDS-PAGE 电泳, 将电泳后的凝胶剥离并用去离子水冲洗, 随后进行固定处理, 加入固定液室温振荡 30 min。弃去固定液后, 用去离子水洗涤 2 次, 每次 5 min, 再加入致敏液振荡处理 30 min。完成致敏后再次用去离子水洗 2 次, 加入染色液避光振荡染色 20 min。最后进行显色, 先快速水洗 2 次, 加入显色液室温振荡至目的条带清晰可见, 拍照。基于银染结果显示的条带差异, 将 DNA pull-down 实验组与对照组的蛋白洗脱产物分别作为样品, 进行液相色谱-串联质谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)鉴定(武汉金开瑞生物工程有限公司), 以筛选特异性结合的蛋白质。

1.7 hrs 结合蛋白的可视化分析

使用韦恩图(<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>)比较不同 hrs 区域结合蛋白的重叠情况。DNA 蛋白质互作(DNA-protein interaction, DPI)网络分析采用 Cytoscape 软件(v3.9.1)进行可视化。

2 结果与分析

2.1 hr1、hr2L、hr3、hr5 探针制备

用 PCR 技术分别扩增 4 组无生物素标记的竞争性探针和 5'端添加生物素标记的探针。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳初步验证后, 进行切胶回收纯化, 并再次通过琼脂糖凝胶电泳验证纯化效果。实验组为添加生物素标记的 DNA 探针 hr1-biotin、hr2L-biotin、hr3-biotin、hr5-biotin, 其大小分别为 751、922、1560、879 bp, 对照组的无生物素标记的竞争性探针 hr1、hr2L、hr3、hr5 分别与实验组大小相同, 琼脂糖凝胶电泳结果如图 1 所示。

2.2 hrs 结合蛋白的鉴定

DNA pull-down 实验产物(实验组、对照组)及 Input 裂解液经 SDS-PAGE 分离和银染检测后结果如图 2 所示。其中, hr1(图 2A)、hr2L(图 2B)和 hr3(图 2C)的实验组(泳道 3)均显示出与对照组(泳道 2)有显著差异的蛋白条带, 表明这些 DNA 序列可能特异性结合了特定蛋白。值得注意的是, 虽然 hr5(图 2D)的实验组与对照组之间仅观察到微弱的条带差异, 但后续采用更灵敏的 LC-MS/MS 分析仍成功鉴定到了特异性结合蛋白, 提示 hr5 可能以较低亲和力或丰度与靶蛋白相互作用。所有检测样本均设置了蛋白 marker(泳道 1)和 Input 对照(泳道 4)以确保实验结果可靠性。

将 hr1、hr2L、hr3、hr5 这 4 个实验组和对照组 DNA pull-down 洗脱下来的蛋白液进行 LC-MS/MS 分析, 蛋白质鉴定和定量分析使用 MaxQuant 质谱分析软件完成, 检索数据库为 UniProt 中的家蚕(*bombyx mori*)及 BmNPV 蛋白质数据库。为确保高可信度的互作蛋白筛选, 以 2 个参数: 肽段覆盖率(sequence coverage)大于 10% 和实验组与对照组的蛋白质定量差异倍数(fold change, FC)值大于 2 作为筛选标准。结果表明 hr1、hr2L、hr3、hr5 分别结合 215、612、92、214 个蛋白(图 3A), 包括病毒和宿主

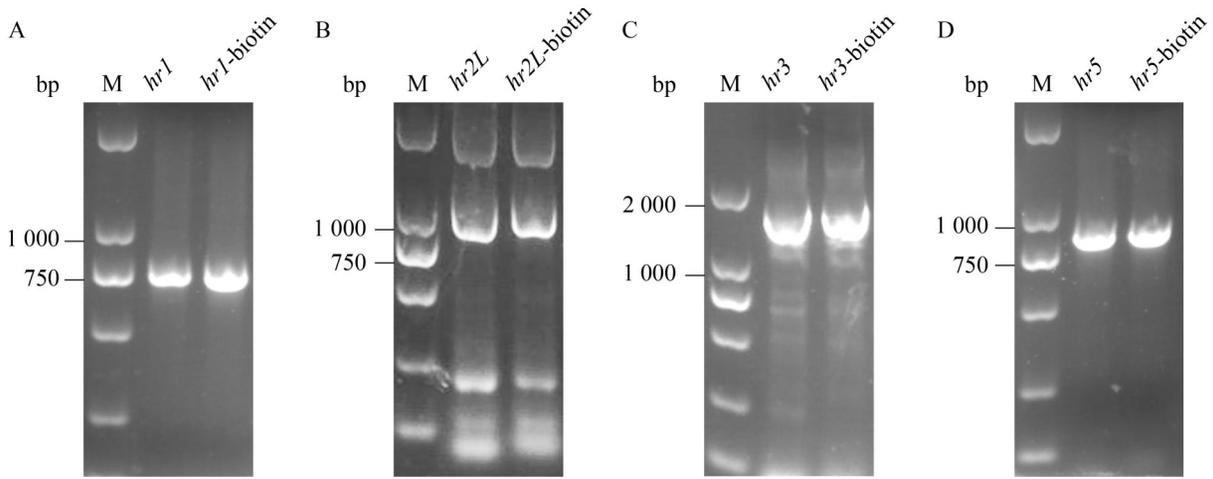


图1 纯化后探针的琼脂糖凝胶电泳分析 A: *hr1*和 *hr1*-biotin探针; B: *hr2L*和 *hr2L*-biotin探针; C: *hr3*和 *hr3*-biotin探针; D: *hr5*和 *hr5*-biotin探针。

Figure 1 Agarose gel electrophoresis analysis of the purified probes. A: *hr1* and *hr1*-biotin probes; B: *hr2L* and *hr2L*-biotin probes; C: *hr3* and *hr3*-biotin probes; D: *hr5* and *hr5*-biotin probes.

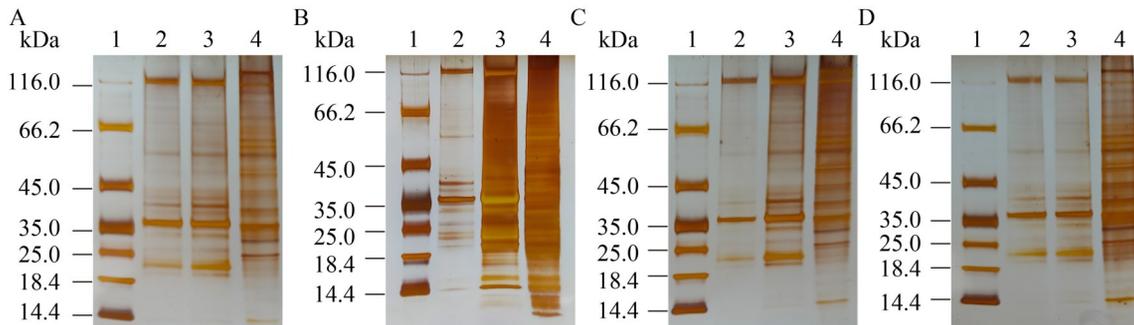


图2 *hrs*结合蛋白银染图 A: *hr1*序列结合蛋白; B: *hr2L*序列结合蛋白; C: *hr3*序列结合蛋白; D: *hr5*序列结合蛋白。泳道1为蛋白marker, 泳道2为对照组, 泳道3为实验组, 泳道4为Input组。

Figure 2 Silver staining of *hrs*-binding proteins. A: Proteins binding to *hr1* sequence; B: Proteins binding to *hr2L* sequence; C: Proteins binding to *hr3* sequence; D: Proteins binding to *hr5* sequence. Lane 1: Protein molecular weight marker; Lane 2: Control group; Lane 3: Experimental group; Lane 4: Input group.

蛋白(图 3B、3C)。每个 *hrs* 结合的宿主蛋白均显著多于病毒蛋白, 提示宿主蛋白可能通过结合病毒 DNA 顺式调控元件 *hrs* 从而影响病毒转录等事件。

根据生成的韦恩图, 发现了 4 个 *hrs* 共同结合的 15 个蛋白, 包括 2 个病毒蛋白和 13 个宿主蛋白, 蛋白的来源、NCBI 序列号、名称、分子量如表 2 所示。宿主蛋白中有 6 个未被鉴

定的蛋白, 其余 7 个已鉴定的宿主蛋白根据其功能特征可划分为 4 个重要功能类别: DNA/RNA 代谢相关蛋白包括 DNA 光修复酶 (deoxyribodipyrimidine photo-lyase)、DNA 指导的 RNA 聚合酶 I/III 亚基 (DNA-directed RNA polymerases I and III subunit) RPAC1 和核小核糖核蛋白 G (Small nuclear ribonucleoprotein G); 与蛋白质翻译相关的组分包括 40S 核糖体蛋白

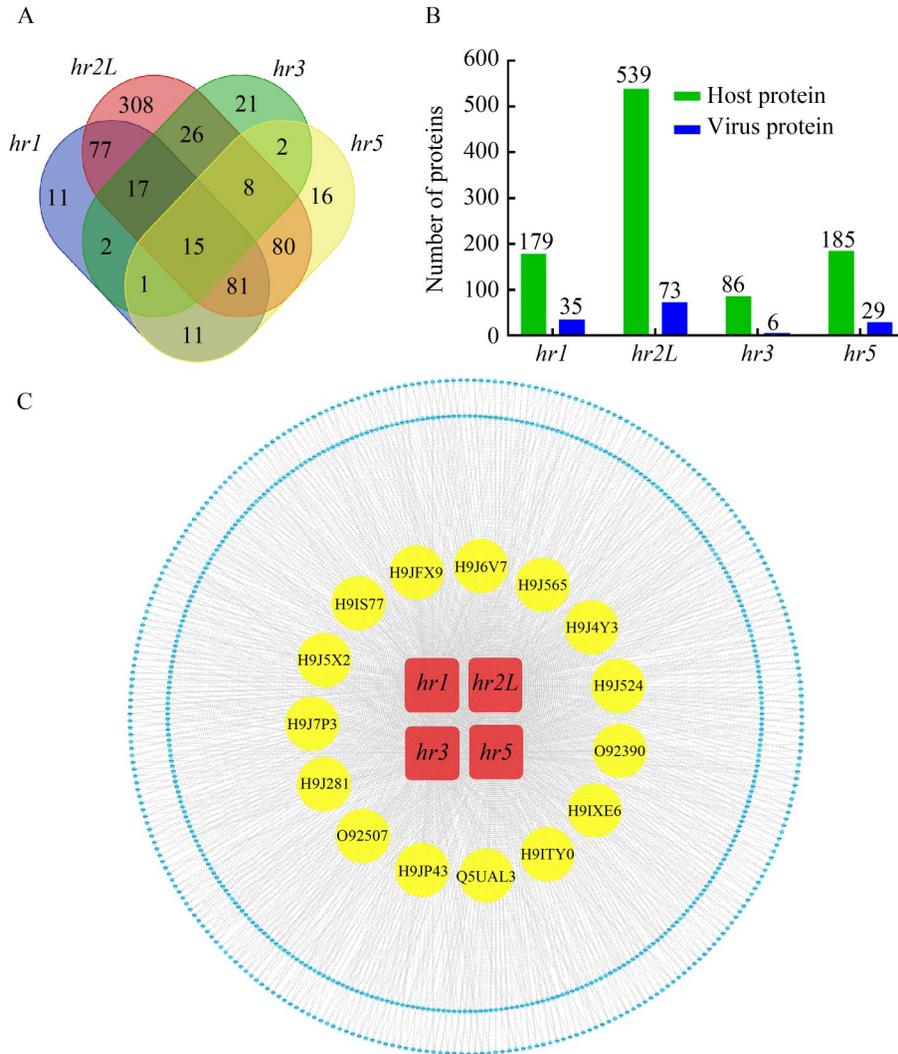


图3 *hrs*结合蛋白的鉴定 A: *hrs*结合蛋白的韦恩图; B: *hrs*结合的宿主和病毒蛋白数量; C: DNA 蛋白质相互作用网络图。

Figure 3 Identification of *hrs*-binding proteins. A: Venn diagram of proteins binding to *hrs*; B: Number of host and viral proteins binding to *hrs*; C: DPI (DNA-protein interaction) network.

(40S ribosomal protein) S29 和 OBG 型 G 结构域蛋白(OBG-type G domain-containing protein); 蛋白质折叠调控因子主要为 Aha1 蛋白(Aha1_N domain-containing protein), 它是一种 Hsp90 共伴侣蛋白^[23]; 细胞信号转导分子包括具有 GTP 酶活性的 OBG 型 G 结构域蛋白。这些宿主蛋白均具有核酸结合潜能, 提示其可能通过与病毒增强子区域的相互作用参与病毒基因表达调控。其次, 在病毒蛋白方面, Bro-d 蛋白属于

BmNPV 特有的 BRO 蛋白家族, 家族成员均具有保守的 DNA 结合域, 而 Orf_14 作为杆状病毒核心基因编码产物, 已被证实具有 DNA 引发酶活性^[24]。这 2 个病毒蛋白与 *hrs* 元件的结合, 不仅证明了实验体系的可靠性, 更重要的是揭示了 *hrs* 可能作为病毒 DNA 复制的调控中心——通过募集 Orf_14 引发酶至复制起始位点来启动 DNA 合成。

根据 Cytoscape 软件生成了 DPI 网络图(图

表2 *hrs*共同结合蛋白的信息Table 2 Information on proteins co-binding to *hrs*

Primer origin	NCBI accession number	Protein	Molecular weight (kDa)
Host	H9J281	Deoxyribodipyrimidine photo-lyase	58.93
Host	H9JP43	Aha1_N domain-containing protein	39.30
Host	H9J6V7	OBG-type G domain-containing protein	26.79
Host	H9J5X2	DNA-directed RNA polymerases I and III subunit RPAC1	38.18
Host	H9ITY0	MSP domain-containing protein	27.82
Host	Q5UAL3	40S ribosomal protein S29	6.65
Host	H9J4Y3	Small nuclear ribonucleoprotein G	8.50
Host	H9IXE6	Uncharactered protein	77.48
Host	H9J524	Uncharactered protein	60.38
Host	H9J7P3	Uncharactered protein	13.80
Host	H9J565	Uncharactered protein	228.06
Host	H9JFX9	Uncharactered protein	43.37
Host	H9IS77	Uncharactered protein	68.19
Virus	O92390	Orf_14	77.95
Virus	O92507	Bro-d	40.05

3C), 呈现出以 4 个 *hrs* 为核心的层级结构, 其中蛋白质成员根据其结合特性形成明确的同心圆分布模式。可以观察到中心处的 4 个节点分别为 4 个 *hrs*, 它们结合的蛋白分别分布在以其为中心的同心圆上, 分布在最内层的黄色节点是与 4 个 *hrs* 均能发生结合的 15 个蛋白, 向外分别是与 1 个 *hr* 结合的蛋白和与 2-3 个 *hrs* 结合的蛋白所构成的同心圆。值得注意的是, 最外层聚集了 762 个能与 2-3 个 *hrs* 结合的蛋白, 占总数的 67.3%, 这一结果表明多价结合是该互作网络的主要连接模式。这些外围蛋白中, 与 2 个 *hrs* 结合的成员可能介导 *hrs* 二聚体的功能协同, 而与 3 个 *hrs* 结合的蛋白则可能参与更复杂的调控网络整合。

3 讨论与结论

以往的研究发现, BmNPV 通过与宿主超级增强子区域的相互作用, 削弱了这些区域对宿主抗病毒基因的转录激活能力, 同时通过病毒基因组内部的顺式相互作用(cis-interaction), 将

劫持的转录因子 GATA 的激活能力扩散至病毒基因组的其他区域, 从而提高病毒基因的表达和感染效率^[19]。作为病毒关键顺式调控元件的 *hrs* (包括本研究中的 *hr1*、*hr2L*、*hr3* 和 *hr5*) 在这些互作中表现出显著高频的相互作用特征, 提示其可能通过形成特定的三维基因组结构介导病毒基因的协同表达与复制。本研究通过 DNA pull-down 结合质谱技术系统鉴定了 BmNPV 基因组中 *hr1*、*hr2L*、*hr3* 和 *hr5* 这 4 个同源重复区的结合蛋白, 筛选到了 15 个共同结合的宿主或病毒蛋白。鉴定到的多价结合蛋白可能作为分子桥梁介导 *hrs* 区域间的功能协同, 为深入理解杆状病毒三维基因组结构的调控功能提供关键靶点。

本研究结果表明, 这些 *hrs* 区域能够特异性结合大量宿主和病毒蛋白, 其中宿主蛋白数量显著多于病毒蛋白, 表明宿主蛋白可能在病毒基因组调控中发挥重要作用, 这一结果与先前关于 BmNPV 劫持宿主转录机器的研究结果相符^[19]。研究发现 15 个能够同时结合 4 个 *hrs* 的

核心蛋白, 包括 2 个病毒蛋白(Orf_14 和 Bro-d) 和 13 个宿主蛋白。有 6 个宿主蛋白尚未被鉴定功能, 这些未知蛋白可能代表新的调控因子。在已知功能的宿主蛋白中, 鉴定出多个参与关键细胞过程的蛋白因子, 包括核酸代谢(如 DNA 光修复酶和 RNA 聚合酶亚基)、蛋白质翻译(40S 核糖体蛋白 S29)以及蛋白质折叠调控(Aha1 蛋白)等重要功能类别。这些蛋白的富集表明, BmNPV 可能通过劫持宿主的核酸加工机器、翻译系统和分子伴侣网络等核心细胞机制, 来支持其基因表达、基因组复制和病毒粒子组装等关键生命活动。其次, 鉴定到的 Bro-d 蛋白作为 BRO 家族的成员之一, 具有已知的 DNA 结合活性^[25], 验证了实验结果的可靠性; 而 Orf_14 蛋白具有 DNA 引发酶活性^[24], 这与 *hrs* 作为 DNA 复制起点的功能相符。通过 DPI 网络分析发现, 67.3% 的结合蛋白能够同时结合 2-3 个 *hrs*, 形成多价结合模式。这种广泛的交叉结合特征提示 *hrs* 区域可能通过共享结合蛋白来协调病毒基因组的调控功能。

不同于以往聚焦于单个转录因子(如 GATA6), 本研究较为系统地描绘了 BmNPV *hrs* 区域的蛋白质互作图谱, 揭示了 *hrs* 结合蛋白的多价结合特性, 筛选到的 15 个核心蛋白(含 13 个新鉴定宿主蛋白)可能介导了 *hrs* 间的协同调控。研究结果为进一步理解 BmNPV *hrs* 区域调控 BmNPV 转录等分子机制提供了重要线索。特别是发现的这些共同结合蛋白, 可能通过同时作用于多个 *hrs* 区域来协调病毒基因的表达和复制。未来研究可以针对这些核心结合蛋白, 特别是功能未知的宿主蛋白进行更深入的功能验证, 以阐明其本身及其所介导的 *hrs* 互作在病毒生命周期中的具体作用。

作者贡献声明

许裕敬: 方案设计、实验操作、初稿写作; 赵书荻: 方案设计; 王星洋: 实验操作; 杨恬、朱新宇: 实验操作、稿件润色修改; 吴小锋: 监督指导、稿件润色。

作者利益冲突公开声明

作者声明没有任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

REFERENCES

- [1] ACKERMANN HW, SMIRNOFF WA. A morphological investigation of 23 baculoviruses[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1983, 41(3): 269-280.
- [2] ENTWISTLE PF, ADAMS PHW, EVANS HF. Epizootiology of a nuclear-polyhedrosis virus in european spruce sawfly (*gilpinia hercyniae*): The status of birds as dispersal agents of the virus during the larval season[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1977, 29(3): 354-360.
- [3] KEDDIE BA, APONTE GW, VOLKMAN LE. The pathway of infection of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus in an insect host[J]. *Science*, 1989, 243(4899): 1728-1730.
- [4] JI XY, SUTTON G, EVANS G, AXFORD D, OWEN R, STUART DI. How baculovirus polyhedra fit square pegs into round holes to robustly package viruses[J]. *EMBO Journal*, 2010, 29(2): 505-514.
- [5] WILLIAMS T, VIRTO C, MURILLO R, CABALLERO P. Covert infection of insects by baculoviruses[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1337.
- [6] KOOL M, VOETEN JT, GOLDBACH RW, TRAMPER J, VLAK JM. Identification of seven putative origins of *Autographa californica* multiple nucleocapsid nuclear polyhedrosis virus DNA replication[J]. *Journal of General Virology*, 1993, 74 (Pt 12): 2661-2668.
- [7] XU YP, CHENG RL, XIY, ZHANG CX. Genomic diversity of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus strains[J]. *Genomics*, 2013, 102(1): 63-71.
- [8] MAJIMA K, KOBARA R, MAEDA S. Divergence and evolution of homologous regions of *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus[J]. *Journal of Virology*, 1993, 67(12): 7513-7521.
- [9] GUARINO LA, SUMMERS MD. Interspersed homologous DNA of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus enhances delayed-early gene expression[J]. *Journal of Virology*, 1986, 60(1): 215-223.
- [10] GUARINO LA, GONZALEZ MA, SUMMERS MD. Complete sequence and enhancer function of the homologous DNA regions of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus[J]. *Journal of Virology*, 1986, 60(1): 224-229.
- [11] PEARSON M, BJORNSON R, PEARSON G, ROHRMANN G. The *Autographa californica* baculovirus genome: evidence for multiple replication origins[J]. *Science*, 1992, 257(5075): 1382-1384.
- [12] LEISY DJ, ROHRMANN GF. Characterization of the replication of plasmids containing hr sequences in baculovirus-infected *Spodoptera frugiperda* cells[J]. *Virology*, 1993, 196(2): 722-730.
- [13] PEARSON MN, BJORNSON RM, AHRENS C, ROHRMANN GF. Identification and characterization of

- a putative origin of DNA replication in the genome of a baculovirus pathogenic for *Orgyia pseudotsugata*[J]. *Virology*, 1993, 197(2): 715-725.
- [14] CHOI J, GUARINO LA. The baculovirus transactivator IE1 binds to viral enhancer elements in the absence of insect cell factors[J]. *Journal of Virology*, 1995, 69(7): 4548-4551.
- [15] CHOI J, GUARINO LA. A temperature-sensitive IE1 protein of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus has altered transactivation and DNA binding activities[J]. *Virology*, 1995, 209(1): 90-98.
- [16] CHOI J, GUARINO LA. Expression of the IE1 transactivator of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus during viral infection[J]. *Virology*, 1995, 209(1): 99-107.
- [17] LIN XA, CHEN Y, YI YZ, ZHANG ZF. Baculovirus immediately early 1, a mediator for homologous regions enhancer function in trans[J]. *Virology Journal*, 2010, 7: 32.
- [18] ZHAO SD, LI YD, CHEN GP, WANG XY, CHEN N, WU XF. Genome-wide chromatin interaction profiling reveals a vital role of super-enhancers and rearrangements in host enhancer contacts during BmNPV infection[J]. *Genome Research*, 2023, 33(11): 1958-1974.
- [19] ZHAO SD, WANG XY, YANG T, ZHU XY, WU XF. BmNPV interacts with super-enhancer regions of the host chromatin to hijack cellular transcription machinery[J]. *Nucleic Acids Research*, 2025, 53(6): gkaf188.
- [20] ROSENFELD MG, LUNYAK VV, GLASS CK. Sensors and signals: a coactivator/corepressor/epigenetic code for integrating signal-dependent programs of transcriptional response[J]. *Genes & Development*, 2006, 20(11): 1405-1428.
- [21] SPITZ F, FURLONG EEM. Transcription factors: from enhancer binding to developmental control[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2012, 13(9): 613-626.
- [22] LIU ZJ, MERKURJEV D, YANG F, LI WB, OH SH, FRIEDMAN MJ, SONG XY, ZHANG F, MA Q, OHGI KA, KRONES A, ROSENFELD MG. Enhancer activation requires trans-recruitment of a mega transcription factor complex[J]. *Cell*, 2014, 159(2): 358-373.
- [23] TANG JY, HU HF, ZHOU C, ZHANG NX. Human Aha1's N-terminal extension confers it holdase activity in vitro[J]. *Protein Science*, 2023, 32(9): e4735.
- [24] MIKHAILOV VS, ROHRMANN GF. Baculovirus replication factor LEF-1 is a DNA primase[J]. *Journal of Virology*, 2002, 76(5): 2287-2297.
- [25] ZEMSKOV EA, KANG W, MAEDA S. Evidence for nucleic acid binding ability and nucleosome association of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus BRO proteins[J]. *Journal of Virology*, 2000, 74(15): 6784-6789.