

## 곤충 핵다각체병 바이러스 다각체 단백질의 소화액에 의한 분해

진병래 · 박범석<sup>1</sup> · 우수동 · 김주읍<sup>2</sup> · 강석권\*

서울대학교 농업생물신소재연구센터, <sup>1</sup>농촌진흥청 유전공학연구소, <sup>2</sup>충북대학교 농과대학

## Degradation of Polyhedral Proteins of Nuclear Polyhedrosis Viruses in the Gut Juice of Several Lepidopteran Larvae

Jin, Byung-Rae, Beom-Seok Park<sup>1</sup>, Soo-Dong Woo,  
Joo-Up Kim<sup>2</sup> and Seok-Kwon Kang\*

Research Center for New Bio-Materials in Agriculture,  
Seoul National University, Suwon 441-744, Korea

<sup>1</sup>Agriculture Biotechnology Institute, R.D.A., Suwon 441-707, Korea

<sup>2</sup>College of Agriculture, Chung Buk National University, Cheongju 360-763, Korea

**Abstract** — The alkaline protease in the polyhedra preparation of *Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus was successfully inactivated by heating at 100°C for 20 minutes. SDS-PAGE analysis indicated that heat inactivated polyhedra is composed of major proteins of 31kDa and presumptive its polymer protein of 62 kDa. However, this polyhedra was converted into several smaller molecular weight proteins when treated with midgut juice, but not by treatment with heat-inactivated midgut juice. When peptide map of polyhedral protein of *Spodoptera litura*(Sl), *Bombyx mori*(Bm) and *Hyphantria cunea*(Hc) nuclear polyhedrosis viruses(NPVs) was compared, activity of alkaline protease in midgut juice of *S. litura* were similar to that of papain. Peptide mapping of polyhedral proteins of three NPVs showed homologous pattern.

곤충 바이러스인 baculovirus subgroup A에 속하는 핵다각체병 바이러스(nuclear polyhedrosis virus : NPV)의 다각체 단백질은 다각체의 주 구성단백질로 (23) 감염말기에 다량 합성되어지며 바이러스 입자를 포매하고 있으나, 바이러스의 감염과 복제에는 관여하지 않으므로(3, 18), 외래유전자 발현을 위한 vector로서 상당한 연구가 이루어지고 있다(2, 11).

다각체 단백질은 28~33 kDa의 단일 주 다각체 단백질(polyhedrin)로 이루어져 있으나 SDS-PAGE에 의하면 다각체 단백질의 중합체(polymer) 및 alkaline protease에 의해 분해되어 저분자화된 minor band 들도 관찰된다(6, 15, 21). 이러한 다각체 단백질을 저분자화시키는 alkaline protease는 곤충 배양세포(*in*

*vitro*)에서 증식된 바이러스 다각체에서는 그 활성이 발견되지 않는 것으로 보고되었으며(12, 13), *Autographa californica* NPV의 경우 그 다각체를 저분자화시키는 alkaline protease를 불활화시키기 위해서는 70~80°C 에서 20~60분 이상 처리로 가능하다는 보고가 있다(24).

본 실험은 나비목인 담배거세미나방 NPV(*Spodoptera litura* NPV : SlNPV), 흰불나방 NPV(*Hyphantria cunea* NPV : HcNPV) 및 누에 NPV(*Bombyx mori* NPV : BmNPV)의 다각체 단백질에 대한 alkaline protease의 작용 및 그 특성에 대하여 연구하였다. 이는 바이러스 살충제의 개발과 baculovirus expression vector의 개발을 위한 필요한 기초자료로 활용될 것이다. 따라서 다각체 단백질에 대하여 SDS-PAGE, peptide mapping, alkaline protease 활성에 따른 분해양상, 그리고 숙주곤충에 따른 alkaline protease 특성을 조사하였다.

**Key words:** Nuclear polyhedrosis virus, lepidopteran larvae, polyhedral protein, alkaline protease, gut juice

\*Corresponding author

## 재료 및 방법

### 바이러스

공시 바이러스 중 담배거세미나방 NPV 및 흰불나방 NPV는 야외에서 감염된 곤충으로 부터 분리하여 본 연구실에서 보관중이던 것을, 그리고 누에 NPV는 국내 양잠농가에서 분리하여 각 숙주곤충을 계대사육하며 각각 생체증식시켜 실험에 사용하였다.

### 바이러스 다각체 분리

바이러스 다각체의 분리는 Summers 등(22)의 방법에 따라 NPV를 각 숙주곤충에 접종시킨 후, 바이러스 병징을 보이는 사충을 수거하여 마쇄하고, 3,000 rpm으로 10분간 원심분리를 3~4회 반복하여 부분 정제된 다각체를 40~65% sucrose density gradient를 작성, 24,000 rpm(Hitachi, SRP-28SA)으로 1시간 원심하여 다각체 band를 분리하였다. 이 band를 추출하여 증류수로 세척하고, 3,000 rpm으로 원심분리하여 sucrose를 제거한 후, 순수 분리된 다각체를 실험에 사용하였다.

### 다각체 단백질의 전기영동

다각체 단백질을 저분자화 시키는 alkaline protease가 오염된 상태로 정제된 다각체로부터 protease의 활성을 불활화시키기 위하여 사전에 보고된 Wood(1980) 방법을 일부 수정하여 사용하였다. Alkaline protease가 오염된 상태로 순수 분리된 다각체를 100°C에서 20분간 처리하고, 15,000 rpm으로 5분간 원심하여 alkaline protease가 불활화된 다각체 침전물을 얻었다. 이 침전물을 알칼리 용액(0.1 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0.17 M NaCl, 0.01 M EDTA, pH 10.9)에 부유시켜 37°C에서 15분간 용해시킨 후(16), 15,000 rpm으로 5분간 원심하여 용해되지 않은 다각체의 침전물을 버리고 상청액을 4°C에서 25,000 rpm으로 40분간 원심하여 virion을 침전, 제거하고 다각체 단백질이 용해된 용액만을 준비하였다.

이 다각체 단백질 용액을 sample buffer(0.0625 M Tris-HCl[pH 6.8], 2% SDS, 10% Glycerol, 5% β-mercaptoethanol, 0.001% bromophenol blue)로 혼합하고, 100°C에서 15분간 처리하여 전기영동 시료를 준비하였다.

또한 alkaline protease의 활성을 확인하기 위하여 일부 다각체는 불활화 과정을 생략하고 상기와 동일한 방법으로 전기영동 시료를 준비하였으며, Laemmli

(10) 방법에 따라 15% acrylamide gel로 SDS-PAGE하고 Coomassie brilliant blue로 염색하여 관찰하였다.

### 중장 소화액 처리

중장 소화액의 준비는 감수성 곤충의 유충생체에 전기충격을 주어 소화액을 토해내게 하고, 그 액을 4°C에서 8,000 rpm으로 30분간 원심하여 상청액을 취하였다. 또한 추출된 소화액을 100°C에서 5분간 처리하여 alkaline protease를 불활화시킨 소화액도 준비하였다.

중장소화액에서 다각체의 처리는 alkaline protease가 불활화된 다각체와 불활화되지 않은 다각체를 각각 준비된 alkaline protease를 불활화시킨 소화액과 그렇지 않은 소화액에 각각 시간별로 처리하고, 그 분해 여부를 SDS-PAGE에 의해 조사하였다.

각 숙주곤충의 중장 소화액에 있어서 alkaline protease의 활성을 비교하기 위하여, 담배거세미나방과 누에 유충의 각 중장 소화액에 SINPV, BmNPV 그리고 HcNPV의 다각체를 각각 3분간씩 처리한 후, 다각체 단백질을 분리하여 SDS-PAGE로 그 분해 여부를 비교하였다.

### 다각체 단백질의 peptide mapping

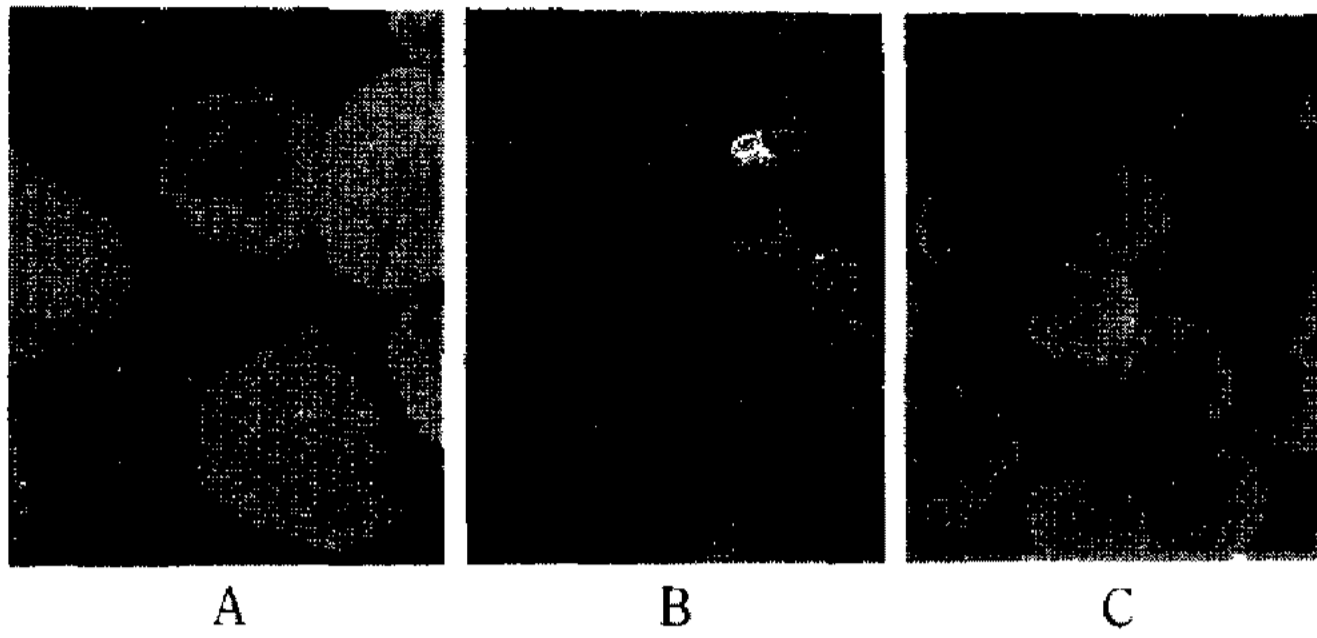
다각체 단백질의 peptide mapping은 Cleveland 등(5)의 방법에 따라 열처리에 의하여 alkaline protease가 불활화된 SINPV, BmNPV 그리고 HcNPV 다각체 단백질을 sample buffer에 각각 용해시키고, 각 용액에 trypsin, chymotrypsin, papain 및 *Staphylococcus aureus* V8 protease(Sigma Co.)를 한가지씩 각각 10 μl(μg/μl) 첨가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후, 100°C에서 3분간 가열하여 반응을 정지시키고 15% acrylamide gel에서 SDS-PAGE하였다.

### 병원성 검정

병원성 검정을 위한 공시충은 본 실험실에서 계대사육 되어온 담배거세미나방 5령충과 누에 3령충 및 흰불나방 5령충을 이용하여 임 등(8)의 방법에 따라 SINPV, BmNPV 및 HcNPV의 농도를 1.0×10<sup>8</sup> PIB/ml로 조제하고 인공사료 표면에 도말 접종시킨 후, 병사충수를 조사하였다.

### 전자현미경 관찰

바이러스 다각체의 외부형태 관찰은 정제된 다각



**Fig. 1. Scanning electron micrography of polyhedra of *Spodoptera litura* NPV, *Bombyx mori* NPV, and *Hyphantria cunea* NPV.**

Arrow indicate pitted surface. Abbreviation: A, SINPV ( $\times 600$ ); B, BmNPV( $\times 700$ ); C, HcNPV( $\times 600$ ).

체를 알루미늄 원반 시료대 위에서 자연건조시킨 후 탄소와 금으로 coating하여 주사전자현미경(Scanning Electron Microscopy : Hitachi, S-570)으로 관찰하였다.

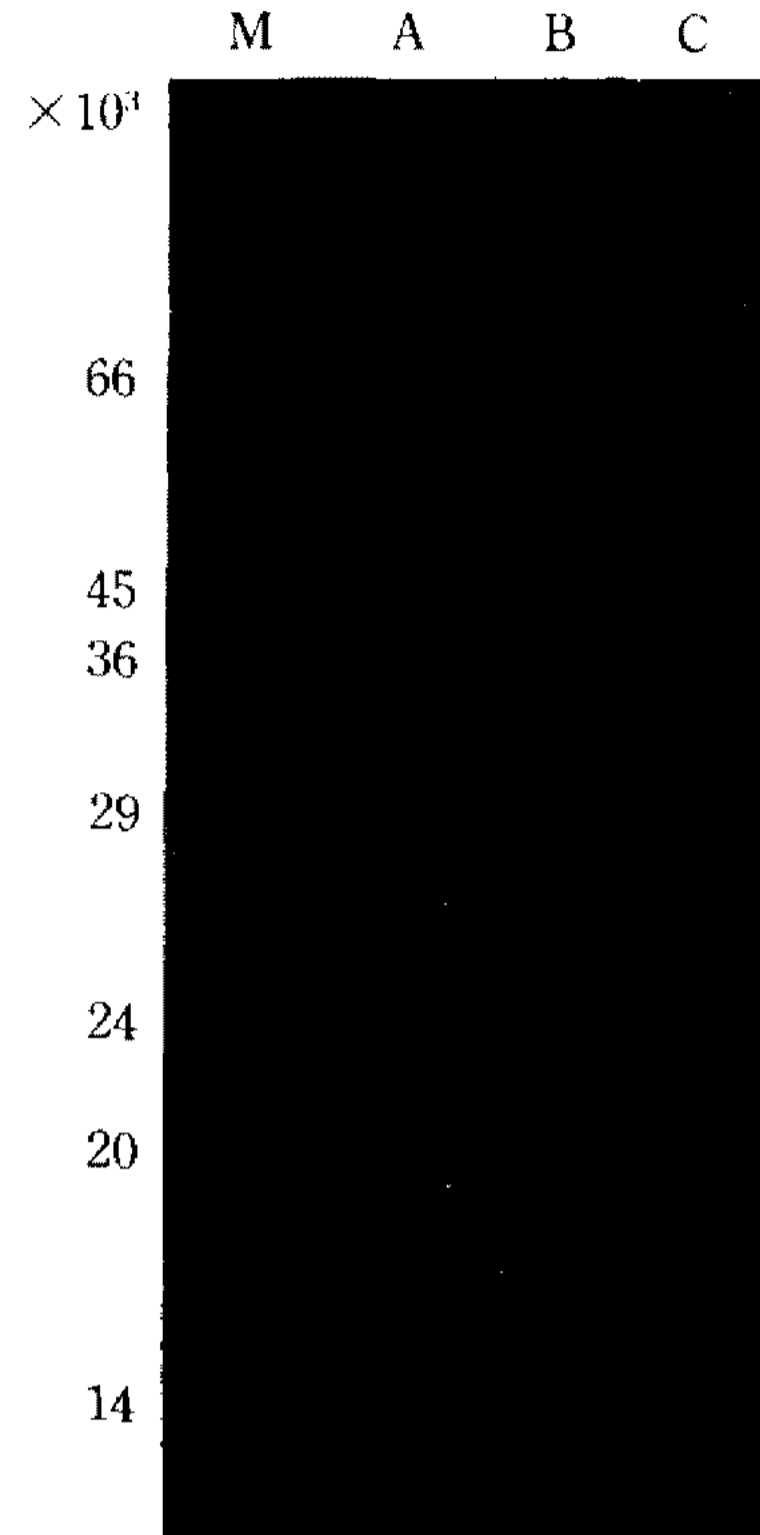
### 결과 및 고찰

#### 바이러스 다각체의 외부형태관찰

주사전자현미경으로 관찰한 SINPV 다각체의 외부 형태는 삼각형, 사각형과 함께 대부분 부정형으로 이루어져 있었고, 그 크기는 변이가 많으며 약 1.9  $\mu\text{m}$  정도였다. 또한 HcNPV 다각체의 형태는 삼각형, 사각형, 부정형으로 매우 다양하였고 크기는 1.5  $\mu\text{m}$  정도였으며, BmNPV의 다각체는 사각형 6개와 육각형 12개로 이루어진 18면체로 거의 균일하며 크기가 약 3  $\mu\text{m}$  정도로 전자와 차이를 보였다(Fig. 1). 그리고 다각체 표면에는 작은 홈(Fig. 1의 화살표)들이 많이 관찰되었는데, 이러한 현상은 Adams 등(1)의 보고와 같이 다각체가 감염세포내에서 미완성된 상태일 때 분리되었거나, 분리과정중에 표면 가까이 위치했던 봉입체 또는 바이러스 입자가 이탈되면서 생긴 흔적으로 추측된다.

#### 다각체 단백질의 전기영동

곤충 생체에서 증식된 NPV의 다각체에 오염되어 있는 것으로 알려져 있는 alkaline protease를 열처리에 의해 불활화시킨 후, 다각체 단백질을 분리하여 전기영동한 결과, SINPV와 HcNPV는 동일하게 분자량이 31 kDa이었고, BmNPV는 분자량이 30 kDa으로써 단일 주 다각체 밴드와 그 중합체로 생각되는 밴드를 관찰할 수 있었다(Fig. 2). 다각체 단백질은 일



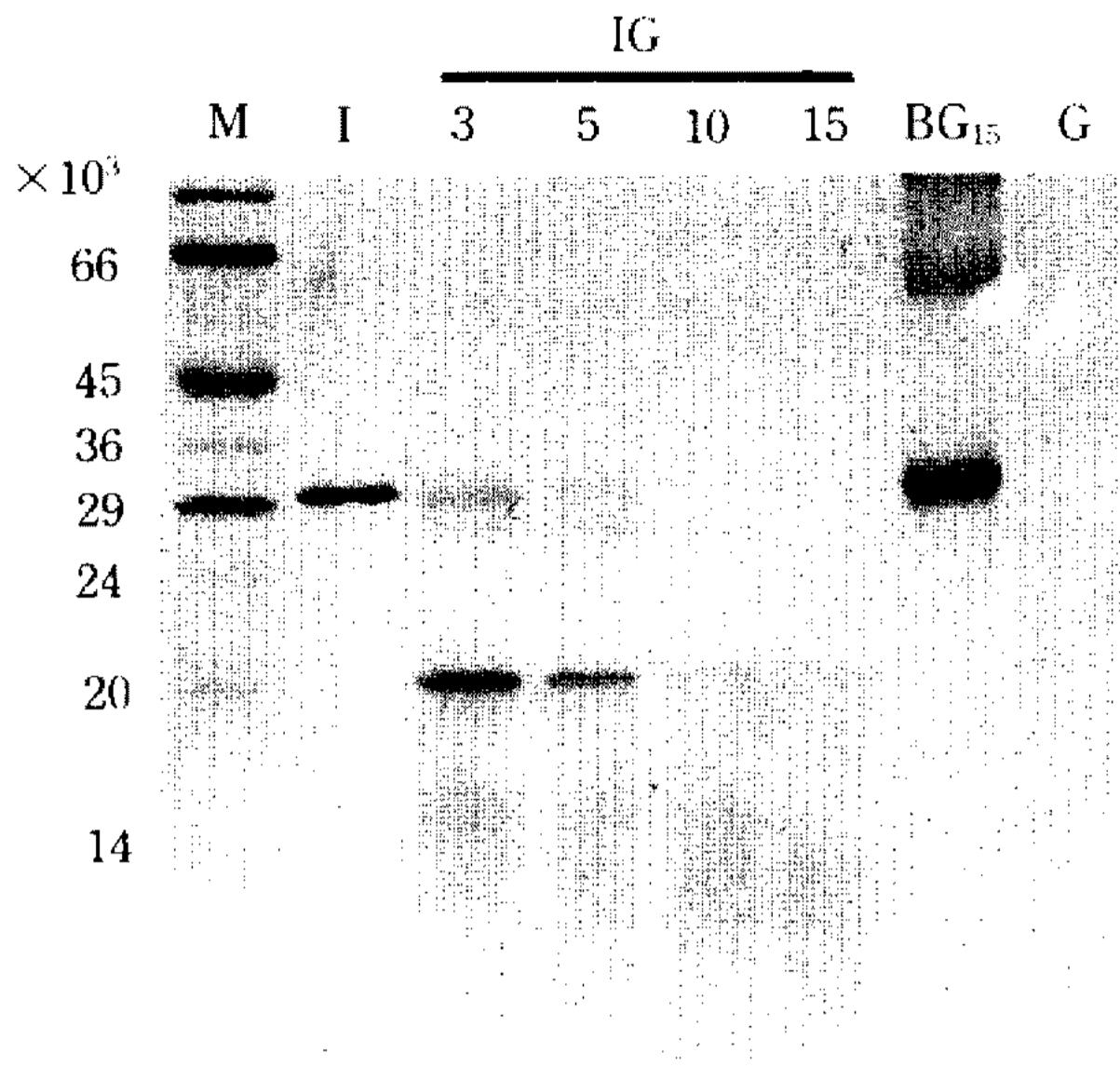
**Fig. 2. SDS-PAGE of polyhedral protein preparation with heat-inactivated alkaline protease of *Spodoptera litura* NPV, *Bombyx mori* NPV, and *Hyphantria cunea* NPV, respectively.**

Abbreviation: A, SINPV; B, BmNPV; C, HcNPV; M, marker proteins.

반적으로 28~33 kDa의 단일 단백질(polyhedrin)로 구성되어 있으나, SDS-PAGE에 의하면 alkaline protease에 의해 저분자화된 다각체 단백질들도 관찰되어진다. 그러나 본 실험에서는 열처리에 의해 alkaline protease를 불활화시켰기 때문에 저분자화된 단백질들은 관찰할 수 없었다.

#### 중장 소화액 처리에 의한 다각체 단백질의 분해

100 $^{\circ}\text{C}$ 에서 20분간 가열하여 alkaline protease를 불활화시킨 다각체를 중장 소화액에 처리하고 다각체 단백질의 분해여부를 SDS-PAGE로 확인한 결과, 중장 소화액의 처리시간이 경과할수록 다각체 단백질이 일정한 pattern으로 저분자화됨이 뚜렷하였다(Fig. 3). 그러나 100 $^{\circ}\text{C}$ 에서 5분간 가열한 중장 소화액에 alkaline protease를 불활화시킨 다각체를 장시간 처리했을 경우에는, alkaline protease가 불활화된 다각체를 알칼리용액(pH 10.9)에 처리했을 때와 같이 31 kDa의 단일 주 다각체 단백질 band와 중합체(polymer)로 생각되는 57 kDa band만 관찰할 수 있었으며, 저분



**Fig. 3. SDS-PAGE of polyhedral protein preparation with heat-inactivated alkaline protease of *Spodoptera litura* NPV.**

Abbreviation: I, polyhedral protein with alkaline protease inactivated by heating for 20 min. at 100°C; IG, polyhedra treated with gut juice for 3 min., 5 min., 10 min., and 15 min., respectively; BG15, polyhedra treated with gut juice inactivated by boiling for 15 min.; G, purified gut juice; M, marker proteins.

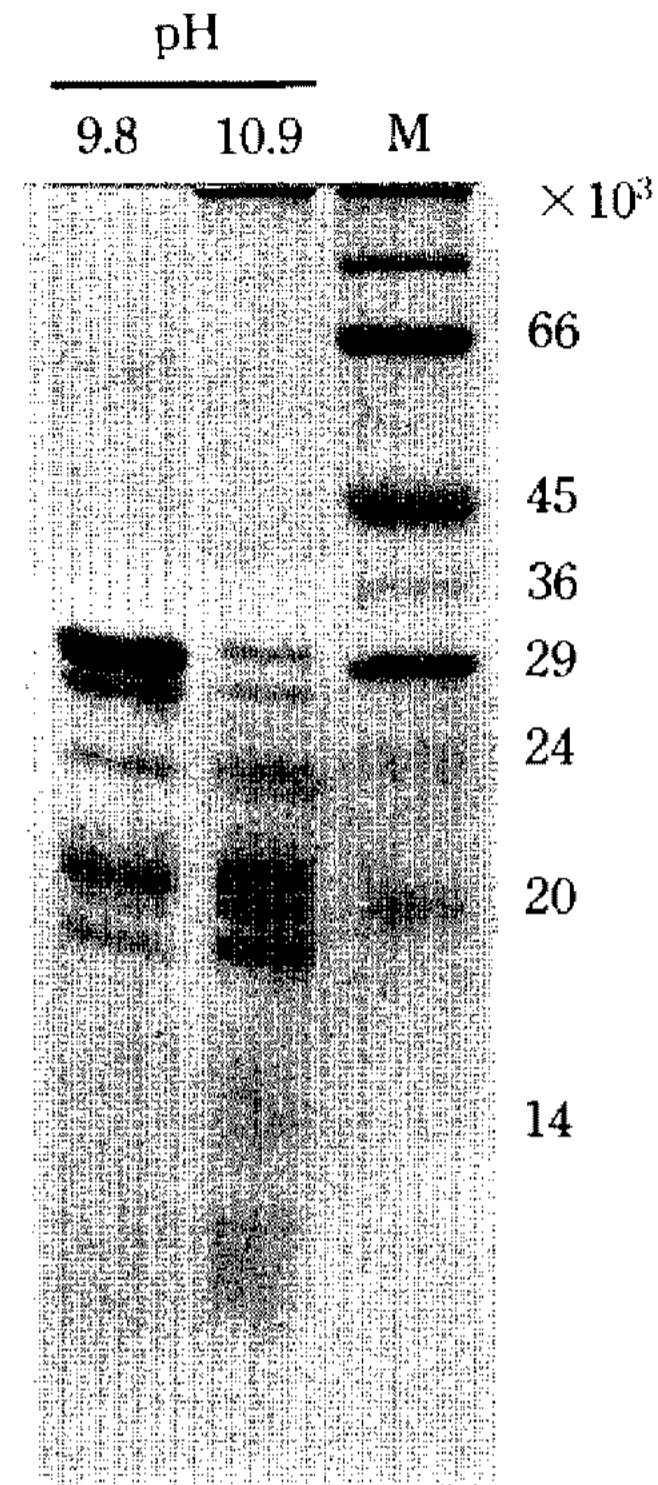
**Table 1. The effect of heat on pH of digestive fluid from 6th instar *Spodoptera litura* and 5th instar *Bombyx mori* larvae**

Heat*	<i>S. litura</i>	<i>B. mori</i>
Untreated	9.84	10.93
100°C	9.63	10.92

\*Digestive fluid was heated for 5 min.

자화된 band는 관찰할 수 없었다(Fig. 3).

이러한 결과는 Nagata와 Tanada(14)가 alkaline protease는 다각체 분리 과정중 유충의 소화액으로부터 유래되는 것으로, 감염충의 소화관을 제거하면 protease가 오염되지 않은 다각체를 분리할 수 있다고 보고한 결과에 비추어 볼 때, 다각체에 이미 오염된 alkaline protease를 열처리에 의하여 불활화시키더라도 다시 중장 소화액을 처리하면 중장 소화액의 alkaline protease에 의해 다각체 단백질은 분해되어 저분자화되는 것을 알 수 있다. 또한, 중장 소화액을 100°C에서 5분간 가열하여 alkaline protease를 불활화시키면 다각체 단백질을 분해시키지 못하고, 단지



**Fig. 4. SDS-PAGE of polyhedral protein of *Spodoptera litura* NPV according to pH degree of alkaline solution.** Polyhedra, not heat treated, subjected to alkaline solution of pH 9.8 or pH 10.9. Abbreviation: M, marker proteins.

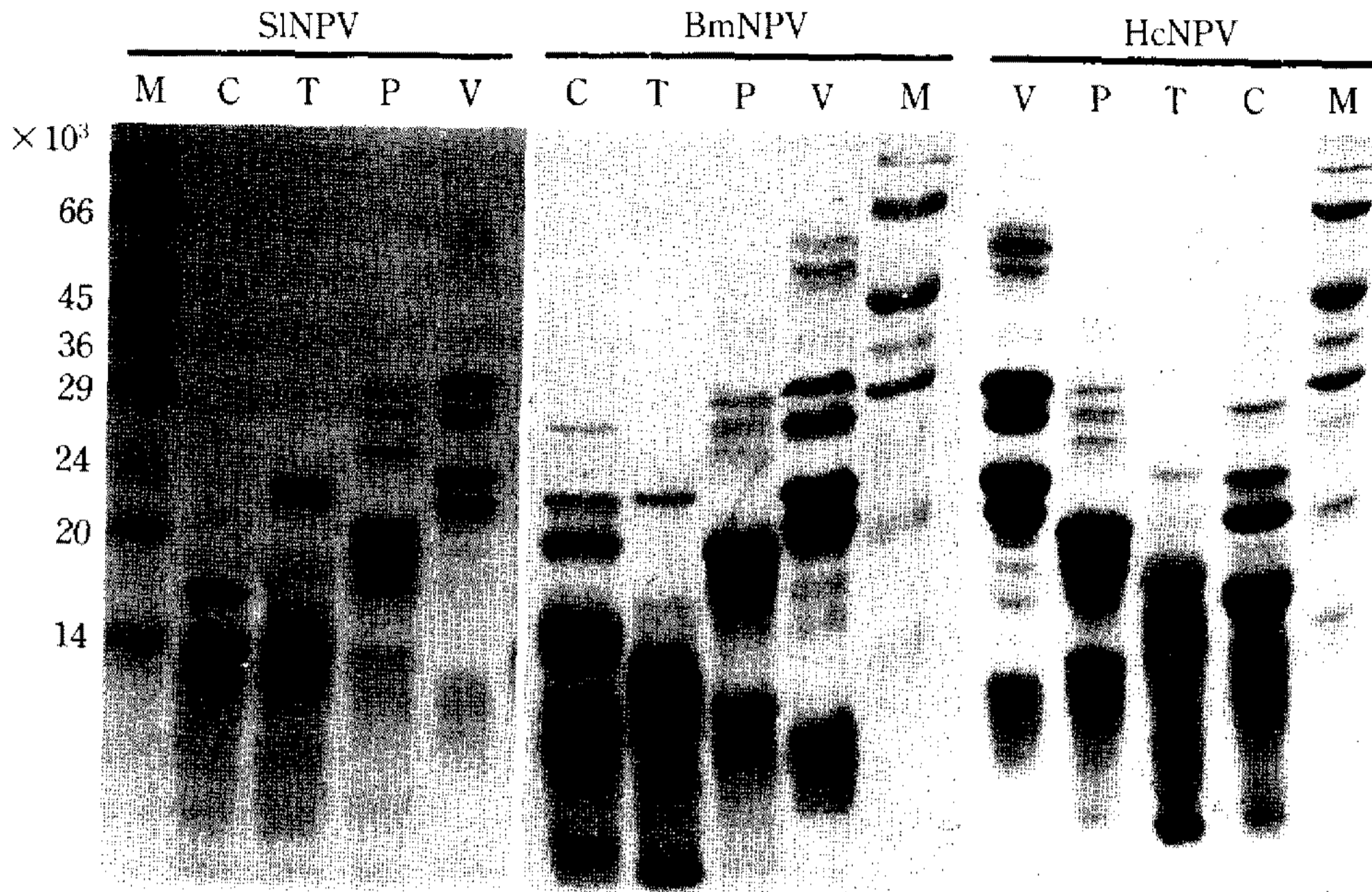
중장 소화액의 알칼리 농도에 의해 31 kDa의 주 다각체 단백질로만 용해되므로서, 다각체 단백질은 단일 subunit로 구성되어 있으며 alkaline protease가 중장 소화액내에 존재함을 확인할 수 있었다.

담배거세미나방 유충 중장의 소화액 pH는 9.84로 누에의 10.9에 비하면 낮은 알칼리 농도이다(Table 1). 따라서 pH의 차이에 의한 다각체 단백질이 분해되는 양상을 알아보기 위해 알칼리 용액의 pH를 유충 중장 소화액의 pH와 같이 누에의 10.9와 담배거세미나방의 9.8로 조정하여 열처리되지 않은 다각체에 5분간씩 처리하였다. 그 결과 다각체 단백질은 pH 10.9에서 조금 더 분해되는 경향을 보였으나 대체적으로 pH 9.8에서와 유사한 결과를 보여 다각체 단백질의 분해에 두 유충 소화액의 pH 차이는 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다(Fig. 4).

#### 다각체 단백질의 peptide mapping

다각체 단백질을 분해시키는 중장 소화액의 alkaline protease 활성의 특성을 조사하기 위하여 chymotrypsin, trypsin, papain, *Staphylococcus aureus* V8 protease를 열처리에 의하여 alkaline protease가 불





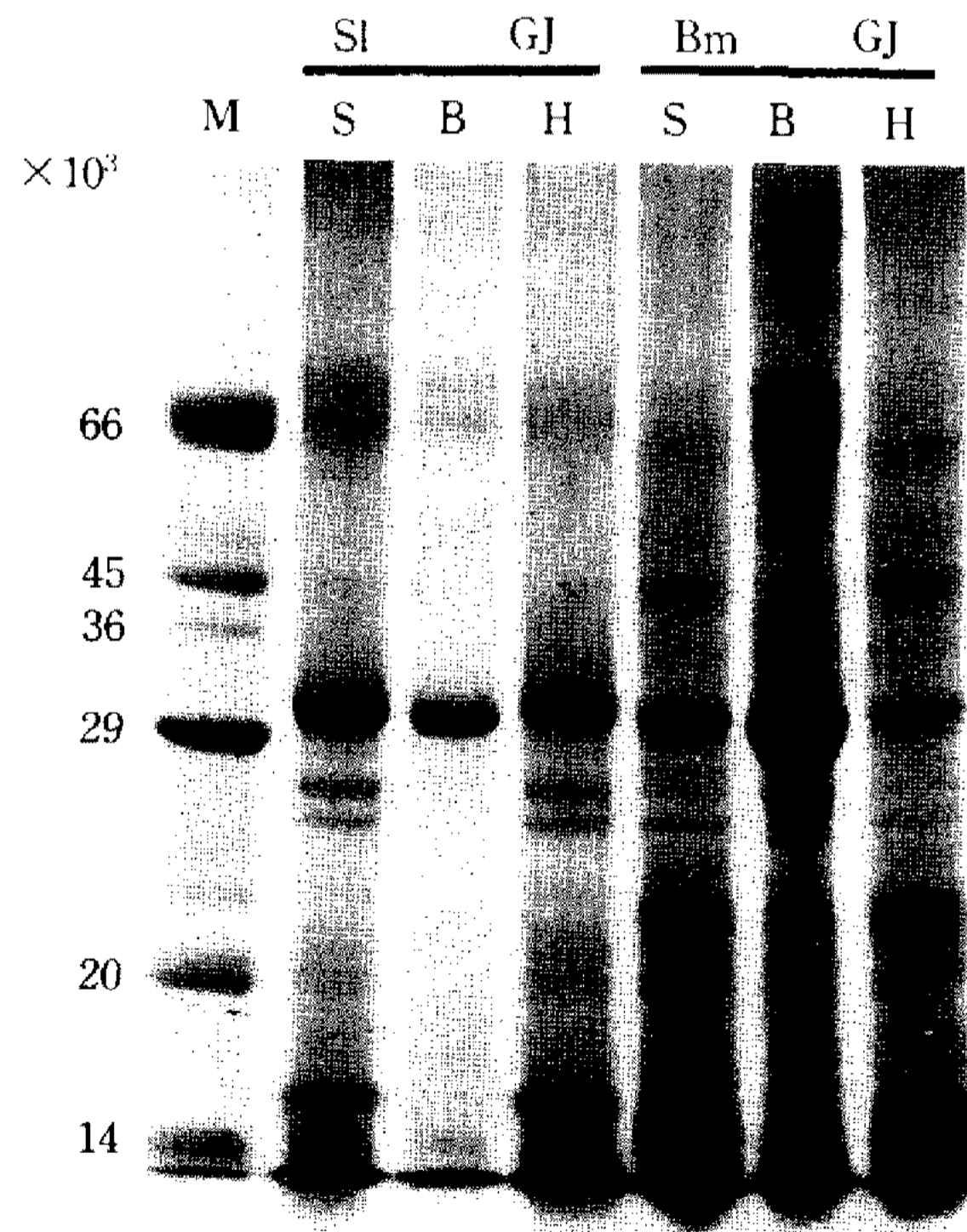
**Fig. 5. Peptide mapping of polyhedral proteins preparation with heat-inactivated alkaline protease of *Spodoptera litura*, *Bombyx mori*, and *Hyphantria cunea* NPVs, respectively, by digestion with chymotrypsin, trypsin, papain, and *Staphylococcus aureus* V8 protease.**

Abbreviation: C, chymotrypsin; T, trypsin; P, papain; V, *Staphylococcus aureus* V8 protease; M, marker proteins.

활화된 각 NPV의 다각체에 처리하여 peptide mapping한 결과(Fig. 5), SINPV의 다각체 단백질은 chymotrypsin에서 가장 많이 저분자화 되었으며 BmNPV와 HcNPV는 trypsin에서 가장 많이 저분자화 되어 전자와 차이를 보였다. 또한 SINPV의 다각체 단백질을 분해시키는 담배거세미나방 유충 중장소화액의 alkaline protease는 papain과 비슷한 활성을 나타내었다. 한편, 3종 NPV의 다각체 단백질을 peptide mapping한 결과를 서로 비교했을 때, Cibulsky 등(4)이 6종의 NPV 다각체 단백질을 peptide mapping한 결과에서 서로 유사성이 매우 높았다는 보고와 박 등(15)이 SINPV와 BmNPV 및 HcNPV의 다각체 단백질간에는 공통 antigenic determinants가 존재한다는 보고 등을 고려할 때, SINPV와 BmNPV 및 HcNPV의 3종 다각체 단백질은 서로 유사한 특성을 가짐을 알 수 있었다.

**숙주곤충에 따른 alkaline protease 활성**

담배거세미나방과 누에 유충의 중장 소화액을 분리하여 열처리에 의하여 alkaline protease가 불활화된 SINPV와 BmNPV 및 HcNPV의 다각체에 처리하여 SDS-PAGE로 분석한 결과, 다각체 단백질은 숙주곤충의 중장 소화액에서 뿐만 아니라 감염성을 나타내지않은 숙주이외 곤충의 중장 소화액에서도 비슷한



**Fig. 6. SDS-PAGE of polyhedral proteins following treatment with gut juice.**

Polyhedra preparation with heat-inactivated alkaline protease subjected to *S. litura* gut juice and *B. mori* gut juice. Abbreviation: SlGJ, *S. litura* gut juice; BmGJ, *B. mori* gut juice; S, *Spodoptera litura* NPV; B, *Bombyx mori* NPV; H, *Hyphantria cunea* NPV; M, marker proteins.

**Table 2. Infectivity of NPVs against 5th instar *Spodoptera litura* and 3rd instar *Bombyx mori* larvae**

Virus	<i>S. litura</i>	<i>B. mori</i>
BmNPV	×	○
HcNPV	×	×
SINPV	○	×

pattern으로 분해되어 저분자화됨을 알 수 있었다(Fig. 6). 나비목 곤충에서 NPV의 감염경로는 바이러스가 다각체 상태로 섭취되며, 높은 알칼리 농도의 중장 소화액(pH 9.5~11.5)에서 다각체 단백질이 용해되어 바이러스 입자가 유리됨으로서 바이러스가 감염된다(7, 17). 따라서 Fig. 6의 결과와 병원성과의 관계유무를 알아보기 위해 담배거세미나방 5령충과 누에 3령충 및 흰불나방 5령충에 SINPV와 BmNPV 및 HcNPV를 교차감염시킨 결과, 숙주곤충 이외는 병원성을 나타내지 않았다(Table 2). 이러한 결과는 중장 소화액에 의하여 다각체 단백질이 용해되는 것은 바이러스의 병원성과는 관계가 없는 것으로 추측할 수 있다.

이상의 결과에서 볼 때 다각체 단백질의 분해는 중장 소화액의 alkaline protease 활성에서 기인되며, 차후 column chromatography에 의한 alkaline protease의 분리 및 alkaline protease의 virion 단백질 분해여부에 대한 연구가 요망되어지며, 또한 alkaline protease의 효소학적 특성 등이 규명되어지므로서, 미생물 살충제 등의 개발에 있어서 다각체 단백질의 특성에 대한 기초적인 지식을 제공할 수 있으리라 기대된다.

## 요 약

담배거세미나방 핵다각체병 바이러스(*Spodoptera litura* nuclear polyhedrosis virus : SINPV)의 다각체에 오염되어 있는 alkaline protease를 불활화시키기 위하여 100°C에서 20분간 처리하고 SDS-PAGE로 다각체 단백질을 분석했을 때, 31 kDa의 band와 그 중합체만이 관찰되었다. 그러나 alkaline protease를 불활화시킨 다각체를 중장 소화액으로 처리했을 경우에는 처리시간이 경과함에 따라 다각체 단백질은 일정한 pattern으로 분해되었다. 한편, 100°C에서 5분간 처리한 중장 소화액에 alkaline protease를 불활화시킨 다각체를 장시간 처리하였을 때에는 다각체 단백질이 저분자화되지 않으므로서 다각체 단백질을

분해시키는 alkaline protease가 중장 소화액으로부터 유래된 것임을 확인하였다. SINPV의 다각체 단백질을 분해시키는 중장 소화액의 alkaline protease의 활성을 조사하기 위하여 peptide mapping한 결과 papain과 비슷한 활성을 나타내었으며, 누에(*Bombyx mori*; Bm) 그리고 흰불나방(*Hyphantria cunea*; Hc)NPV 다각체 단백질의 peptide map을 서로 비교한 결과 3종 NPV의 다각체 단백질 간에는 서로 유사성이 있음을 알 수 있었다.

## 감사의 말씀

본 연구는 서울대학교 농업생명 신소재 연구센터와 농촌진흥청 특정과제 연구비에 의하여 수행된 연구의 일부로 연구비 지원에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Adams, J.R., and T.A. Willcox. 1982. Scanning electron microscopical comparisons of insect virus occlusion bodies prepared by several techniques. *J. Invertebr. Pathol.* **40**: 12-20.
- Blissard, G.W., and G.F. Rohrmann. 1990. Baculovirus diversity and molecular biology. *Annu. Rev. Entomol.* **35**: 127-155.
- Carson, D.D., M.D. Summers, and L.A. Guarino. 1991. Molecular analysis of a baculovirus regulatory gene. *Virology* **182**: 279-286.
- Cibulsky, R.J., J.D. Harper, and R.T. Gudauskas. 1977. Biochemical comparison of polyhedral protein from five nuclear polyhedrosis viruses infecting *Plusiine* larvae(Lepidoptera : Noctuidae). *J. Invertebr. Pathol.* **29**: 182-191.
- Cleveland, D.W., S.G. Marc, M.W. Kirsner, and U.K. Laemmli. 1977. Peptide mapping by limited proteolysis in sodium dodecyl sulfate and analysis by gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.* **252**: 1102-1106.
- Eppstein, D.A., and J.A. Thoma. 1975. Alkaline protease associated with the matrix protein of a virus infecting the cabbage looper. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **62**: 478-484.
- Granados, R.R. 1978. Early events in the infection of *Heliothis zea* midgut cells by a baculovirus. *Virology* **90**: 170-174.
- 임대준, 박범석, 진병래, 최귀문, 강석권. 1988. 담배거세미나방 핵다각체병 바이러스의 병원성. *한응곤*. **27**(4): 219-224.
- Donald, L.J., A.B. Dwight, and G.J. Aurelio. 1992.

- Enhancement of polyhedrin nuclear localization during baculovirus infection. *J. Virol.* **66**: 6903-6911.
10. Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature(London)*. **227**: 680-685.
  11. Luckow, V.A., and M.D. Summers. 1988. Trends in the development of baculovirus expression vectors. *Bio/Technology*. **6**: 47-55.
  12. Maruniak, J.E., M.D. Summers, L.A. Falcon, and G.E. Smith. 1979. *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus structural proteins compared from *in vivo* and *in vitro* sources. *Intervirology*. **11**: 82-88.
  13. McCarthy, W.J., and R.A. DiCaupa. 1977. Characterization of solubilized proteins from tissue culture and host-derived nuclear polyhedra of *Lymantria dispar* and *Autographa californica*. *Intervirology*. **11**: 174-181.
  14. Nagata, M., and Y. Tanada. 1983. Origine of alkaline protease associated with the capsule of a granulosis virus of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta*(Haworth). *Arch. Virol.* **76**: 245.
  15. 박범석, 김현욱, 진병래, 임대준, 강석권. 1988. 수종 나비목 핵다각체병 바이러스의 다각체 단백질 특성과 그에 대한 Alkaline protease의 영향. *한응곤*. **27**: 211-218.
  16. Pritchett, D.W., S.Y. Young, and W.C. Yearian. 1982. Dissolution of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus polyhedra by the digestive fluid of *Trichoplusia ni*(Lepidoptera:Noctuidae) larvae. *J. Invertebr. Pathol.* **39**: 354-361.
  17. Pritchett, D.W., S.Y. Young, and W.C. Yearian. 1984. Some factors involved in the dissolution of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus polyhedra by digestive fluids of *Trichoplusia ni* larvae. *J. Invertebr. Pathol.* **43**: 160-168.
  18. Smith, G.E., M.J. Fraser, and M.D. Summers. 1983. Molecular engineering of the *Autographa californica* nuclear polyhedrosis genome: deletion mutations within the polyhedrin gene. *J. Virol.* **46**: 584-593.
  19. Sugimori, H., T. Nagamine, and M. Kobayashi. 1991. Protein synthesis in Bm-N cells infected with *Bombyx mori* nuclear polyhedrosis virus. *J. Invertebr. Pathol.* **58**: 257-268.
  20. Summers, M.D., and G.E. Smith. 1975. *Trichoplusia ni* granulosis virus granulin: a phenol-soluble, phosphorylated protein. *J. Virol.* **16**: 1108-1113.
  21. Summers, M.D., and G.E. Smith. 1978. Baculovirus structural polypeptides. *Virology* **84**: 390-402.
  22. Summers, M.D., and G.E. Smith. 1987. A methods for the baculovirus vector and insect cell culture procedures. *Texas Agricultural Experiment Station Bulletin* No. 1555.
  23. Vlak, J.M., and G.E. Rohrmann. 1985. The nature of polyhedrin. In *Viral Insecticides for Biological Control*, pp. 489-542, Edited by K. E. Sherman & K. Maramorosch, New York & London: Academic Press.
  24. Wood, H.A. 1980. Protease degradation of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus protein. *Virology* **103**: 392-399.

(Received September 20, 1993)