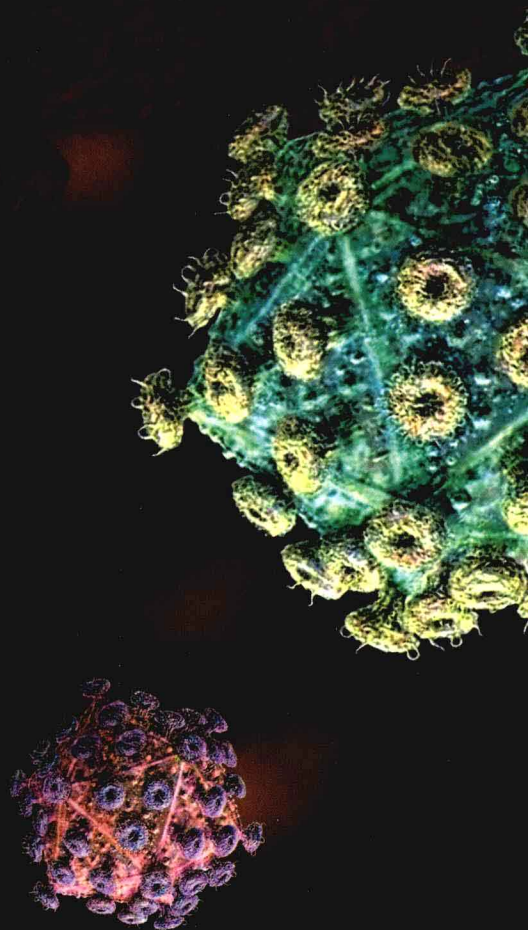


Molecular Biology of Lentivirus and Foamy virus

慢病毒与泡沫病毒 分子生物学

耿运琪 等 著



科学出版社

慢病毒与泡沫病毒分子生物学

Molecular Biology of Lentivirus and Foamy virus

耿运琪 等 著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

慢病毒和泡沫病毒同属反转录病毒科。前者的某些成员,如人免疫缺陷病毒,可引发严重威胁人类健康的艾滋病;而后者,迄今尚未发现它与宿主的任何疾病相关。本书介绍了作者在慢病毒和泡沫病毒方面的部分研究成果,内容包括慢病毒基因组的结构和功能、潜伏感染机制、动物慢病毒在艾滋病防控方面的潜在价值、泡沫病毒独特的基因表达调控方式及其在进化中的重要地位等。

目前有关动物慢病毒和泡沫病毒的研究相对滞后于其他致病性病毒,作者所在的实验室是国际上长期从事牛免疫缺陷病毒和泡沫病毒系统研究的主要实验室之一,因此,本书的内容部分反映了该领域的研究进展。本书可供从事反转录病毒,特别是慢病毒和泡沫病毒研究的科技工作者及相关专业的研究生参考。

图书在版编目(CIP)数据

慢病毒与泡沫病毒分子生物学=Molecular Biology of Lentivirus and Foamy virus/耿运琪等著. —北京:科学出版社,2012

ISBN 978-7-03-034123-5

I. ①慢… II. ①耿… III. ①病毒学—分子生物学 IV. ①Q939.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 074563 号

责任编辑:夏 梁 张 琰/ 责任校对:宋玲玲 钟 洋

责任印制:钱玉芬/ 封面设计:耕者设计工作室

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京通州皇家印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2012 年 5 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2012 年 5 月第一次印刷 印张:52

字数:1 233 000

定价:260.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

著者名单（按撰写章节先后排序）

乔文涛	耿运琪	孔晓红	邓 刚	陈启民
苏 旻	周 军	宣成昊	刘 畅	刁丽榕
王 琛	姚 雪	沈月全	王书晖	曾 毅
李 悦	吴颖运	邵一鸣	谈 娟	王金忠
王 健	吴亚锋	许丰雯	刘 力	常 锐

序 一

慢病毒和泡沫病毒同属反转录病毒科。前者的某些成员，如人免疫缺陷病毒可引发严重威胁人类健康的艾滋病；而后者，迄今尚未发现它与宿主的任何疾病相关。由南开大学耿运琪教授等撰写的《慢病毒与泡沫病毒分子生物学》一书，为我们系统了解慢病毒和泡沫病毒提供了重要参考。

近 30 年来，尽管世界各国科学家为艾滋病的防控付出了巨大努力，在病毒的结构、基因组表达调控模式、疫苗和抗病毒药物研发等方面取得诸多重要成果，但还是有许多基础问题有待阐明。耿运琪教授主持的南开大学分子病毒学实验室以动物慢病毒——牛免疫缺陷病毒为模型，针对慢病毒基因组结构高度相似而致病性却表现出显著差异、动物慢病毒在艾滋病防控方面的潜在价值等科学问题进行了 20 年的潜心研究。该书的上篇总结了他们在这一领域的部分研究成果，除了涉及慢病毒基因组的表达调控、慢病毒在感染过程中与宿主的相互作用等分子生物学内容以外，还对动物慢病毒在抗艾滋病药物筛选、嵌合病毒在艾滋病疫苗方面的应用等进行了探索，为我们系统了解慢病毒特别是动物慢病毒分子生物学提供了参考，也为我们研究人免疫缺陷病毒和艾滋病提供了有益的借鉴。

泡沫病毒由于对天然宿主的不致病性、基因表达调控的复杂性、进化地位的独特性，以及在构建安全的新型病毒载体方面的重要性，近年来逐渐受到分子生物学家们的关注。该书的下篇对泡沫病毒的基因组结构、潜伏感染的分子机制、病毒在感染过程中与宿主的相互作用等分子生物学内容做了比较系统的介绍。鉴于目前有关泡沫病毒的文献报道较少，因此，该书为我们提供了比较全面地了解泡沫病毒的机会，对进一步推动我国泡沫病毒和反转录病毒的研究具有重要参考价值。

南开大学分子病毒学实验室二十年如一日，研究方向稳定，科学目标明确，执着追求，不懈努力，已成为我国慢病毒和泡沫病毒研究领域具有一定学术影响力的研究团队之一。本人见证了南开大学病毒学科创立、发展的过程，赞赏耿运琪教授及他带领的这支队伍科学严谨的学风和勇于坚守的精神，由衷希望南开大学病毒学科的学术水平进一步提高，研究队伍不断壮大，继续为我国病毒学的发展作出贡献！



中国科学院院士

2011 年 7 月

序 二

慢病毒和泡沫病毒是反转录病毒科的重要成员。由耿运琪教授等撰写的《慢病毒与泡沫病毒分子生物学》一书，为我们提供了比较全面地了解慢病毒和泡沫病毒的机会，这是一件很有意义的事。

作为慢病毒的典型代表，人免疫缺陷病毒引发的艾滋病已成为人类健康的重大威胁，也是世界各国政府面临的严峻社会问题之一。耿运琪教授主持的南开大学分子病毒学实验室以动物慢病毒——牛免疫缺陷病毒为模型，系统研究慢病毒基因组的结构与功能、基因表达调控模式、慢病毒逃避宿主免疫监视和清除的分子机制、慢病毒在建立潜伏感染过程中与宿主的相互作用、慢病毒的致病机制等科学问题，特别是对动物慢病毒在艾滋病防控方面的潜在价值、抗艾滋病药物筛选模型、嵌合病毒在艾滋病疫苗和药物评价方面的应用等方面进行了一系列有益的探索。该书的上篇比较系统地介绍了该实验室在慢病毒研究方面的成果，内容涉及慢病毒分子生物学的不同层面，对我们深入了解慢病毒特别是动物慢病毒具有重要价值，同时也为人免疫缺陷病毒和艾滋病的研究提供了重要借鉴。

泡沫病毒是一类非常独特的反转录病毒，可感染多种细胞但对天然宿主不致病；基因组中有两个启动子，具有复杂的基因表达调控方式；进化地位独特，介于正反转录病毒与嗜肝 DNA 病毒之间。泡沫病毒的这些特点在研究反转录病毒进化和构建安全有效的新型病毒载体方面具有重要意义。该书的下篇比较系统地介绍了泡沫病毒的分子生物学，重点阐述了病毒在感染过程中与宿主细胞的相互作用及潜伏感染的分子机制。鉴于国际上从事泡沫病毒研究的实验室较少，可供参考的文献不多，因此，该书的出版对推动我国泡沫病毒及相关领域的研究具有重要意义。

目前虽有不少有关反转录病毒的教科书，但缺乏有关动物慢病毒和泡沫病毒的专著。从这个意义上说，该书的出版填补了这个空白。同时，南开大学分子病毒学实验室 20 年围绕一个研究目标，坚持不懈、执着追求的科学精神也是值得提倡的。



中国科学院院士

2011 年 7 月

序 三

反转录病毒一直是病毒学乃至整个生命科学领域研究的热点之一。反转录病毒具有独特的基因组结构和复制方式，反转录酶是体外基因操作的重要工具；经过改造的反转录病毒可作为基因转移的载体，是临床基因治疗的重要手段；反转录病毒的某些成员可引起诸如白血病、艾滋病等严重的疾病。因此，反转录病毒不仅备受病毒学家的关注，也深受分子生物学和医学界的关注。

然而，反转录病毒科的某些成员，如某些动物慢病毒和泡沫病毒，由于不使宿主致病而相对受到冷落，国际上对这些病毒进行长期系统研究的实验室也不多。由耿运琪创建和主持的南开大学分子病毒学实验室对动物慢病毒及泡沫病毒进行了 20 年的研究，他们将部分研究成果撰写成书，为我们提供了比较全面的了解慢病毒和泡沫病毒的机会。该书的大部分内容已在国际期刊发表，从某种意义上说，该书从某一侧面反映了该领域的研究进展。

该书的上篇介绍了慢病毒基因组的结构和表达调控机制、病毒与宿主的相互作用、动物慢病毒在抗艾滋病药物筛选和艾滋病疫苗研究方面的应用，对我们系统了解慢病毒分子生物学和研究人免疫缺陷病毒具有重要参考价值。该书的下篇介绍了泡沫病毒的进化和分类地位、独特的基因表达调控方式、病毒在感染过程中与宿主细胞的相互作用，对我们全面了解泡沫病毒，进而构建安全有效的基因转移载体，推动我国相关领域的研究具有重要意义。

耿先生学识渊博、兴趣广泛，为人谦和低调，在业内同仁中广受尊敬，并深受学生们的爱戴。他在担任南开大学副校长和生命学院院长期间为南开大学的教学与科研作出了重要贡献。他主持的南开大学分子病毒学实验室更是二十年如一日，坚持不懈、兀兀穷年，对慢病毒和泡沫病毒进行系统深入的研究，不仅取得了一系列成果，培养了大批人才，也成就了南开大学的分子病毒学学科和研究团队。该书不仅是对耿先生和他的团队过去二十年研究工作的回顾与总结，也为后来人的继续探索提供了参考和借鉴。我们需要这种对学术品味的坚守，提倡这种执着追求的科学精神，也祝愿这个研究团队在下一个二十年继续取得具有国际水平的原创性成果。

饶子和

中国科学院院士

2011 年 7 月 谨识于南开园

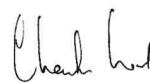
序 四

Retroviruses are a diverse group of RNA viruses isolated from different animals, ranging from primates to non-primate species. They can be non-pathogenic to the infected host, without developing any clinical symptoms or can produce an array of pathogenic outcome, including malignancies. The first mammalian retrovirus, Rous sarcoma virus, was identified by Dr. Peyton Rous in 1911. Since then much has been learned about this group of viruses, not only were they found to transform infected host cells via a number of mechanisms, including encoding for viral oncogenes, they were also found to be unique by replicating through a DNA intermediate using a unique enzyme, RNA dependent DNA polymerase. The second turning point in our understanding of retroviruses was the discovery of the human immunodeficiency virus (HIV), the etiologic agent for AIDS, thirty years ago, a virus found to be a member of the orthoretrovirinae/lentivirus subfamily of the retroviridae. The focus of the scientific community once again has been on retroviruses. Through the studies on HIV, much has been learned broadly about how retroviruses interact with the infected hosts, from the molecular, cellular and the tissue level, including how HIV evades the host immune response and maintain latent for a number of years. With the advent of the HIV/AIDS epidemic, various animal lentiviruses were extensively evaluated as possible model for studying HIV infection and pathogenesis, but much of the focus and attention of an animal model for HIV have been on the simian immunodeficiency virus (SIV), which causes an AIDS like disease in macaque, and has become the prime model not only for studying disease pathogenesis but for testing of vaccine and antiviral regimens as well. Unfortunately, progresses made on other non-primate lentiviruses were lagging behind those of the primate viruses. Laboratories globally that are still actively contributing to our basic understanding on this group non-primate lentiviruses are limited, and the Laboratory of Molecular Virology led by my dear friend and colleague Professor Yunqi Geng at Nankai University in China, which has continuing to make an impact on the field, is one of them.

Since the establishment of the Laboratory by Professor Geng in 1991, the contribution by Professor Geng and his team to animal lentiviruses, especially on bovine lentiviruses has been unprecedented. This laboratory is well known and respected internationally, and has published over 200 manuscripts, a number of chapters and books all related to this group of viruses. Professor Geng and his team have elucidated the genetic organization, the structural function of various viral genes as well as the molecular regulation of their gene expression and interaction with host cellular factors. Moreover, his laboratory has developed molecular tools which enable one to use animal lentiviral system to screen for

anti-viral compounds, including those for HIV. The influence of their work on the field has been enormous.

It is indeed my privilege to be able to preview and provide a preface of this latest book by Professor Geng. This book focuses on representatives from two groups of retroviruses, the orthoretrovirinae and the spumaretrovirinae, focusing on bovine viruses, using JDV and BIV as representatives for the former group and the bovine spumavirus for the latter. The book provides a systemic review and compilation of the previously published manuscripts, starting from a general introduction to the isolation of Chinese viral strains and to the molecular mechanisms regulating the expression of the various viral genes, and to the deciphering of how the viral genes interact with the host cellular factors to contribute to disease pathogenesis, accumulating over twenty years of knowledge generated by Professor Geng and his team. This book should be a valuable resource for all and one of the must read material for students who want to learn about this group of viruses and for researchers who would like to further study them. Professor Geng and his group should be congratulated for their outstanding scientific contribution and for this excellent book on bovine retroviruses.



Charles Wood, PhD

Director, Nebraska Center for Virology

Lewis Lehr/3M University Professor

University of Nebraska

July 2011

前 言

呈现在读者面前的这本书，是南开大学分子病毒学实验室 20 年来在慢病毒和泡沫病毒研究方面的部分总结。

慢病毒 (lentivirus) 和泡沫病毒 (foamy virus, FV) 同属反转录病毒科 (*Retroviridae*)。根据国际病毒分类学委员会 2002 年修改的命名规则，将反转录病毒科划分为两个亚科：正反转录病毒亚科 (*Orthoretrovirinae*) 和泡沫反转录病毒亚科 (*Spumaretrovirinae*)。前者包括致癌病毒 5 个属和慢病毒属，后者则只有泡沫病毒属。

人免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 是慢病毒的典型代表。HIV 引发的艾滋病已成为 21 世纪人类面临的最严重的传染性疾病之一。20 年前我们开始关注慢病毒主要基于以下原因。一是慢病毒之间致病性的显著差异。基因组结构和调控方式与 HIV 高度相似的动物慢病毒——牛免疫缺陷病毒 (bovine immunodeficiency virus, BIV) 通常只引起白细胞减少、进行性机能退化等轻微症状，一般并不引起死亡；而源于 BIV 的 Jembrana disease virus (JDV) 可引起剧烈的淋巴病变，死亡率高达 17%。慢病毒之间结构上的高度相似性与致病性上的显著差异该如何解释？二是慢病毒的潜伏感染机制。潜伏感染是慢病毒逃避宿主免疫监视和清除的重要策略。慢病毒在建立潜伏感染的过程中与宿主如何相互作用？外界因素的刺激，如其他病毒的超感染如何直接或间接地影响慢病毒的基因表达进而改变慢病毒的生命进程？三是动物慢病毒在艾滋病防控方面的潜在价值。与 HIV 结构高度相似的 BIV 作为药物筛选模型，有没有可能筛选出具有广谱抗病毒活性的抑制剂从而降低耐药性的产生？嵌合病毒在艾滋病疫苗和药物评价方面发挥了重要作用，同时也为 HIV 致病机理的研究提供了极好的模型。能否借鉴人猴嵌合艾滋病病毒毒株 (chimeric simian/human immunodeficiency virus, SHIV) 成功的经验，将非灵长类慢病毒 BIV 与 HIV 相应基因合理组合，构建出一种能在人源细胞中复制、将 HIV 原有的细胞嗜性及免疫原性与 BIV 的低致病性结合起来的重组病毒，从而为艾滋病疫苗的研发提供新的思路？

本书的上篇介绍了作者围绕上述科学问题进行研究的部分结果。其中，第一章和第二章对反转录病毒及慢病毒做概括介绍，包括分离牛免疫缺陷病毒中国毒株的工作及在人免疫缺陷病毒母婴传播分子机制方面的工作；第三章介绍慢病毒基因表达调控，针对 JDV 与典型慢病毒在结构上的高度相似性和在致病性上的显著差异，从转录调控的角度阐述其分子机制；第四章至第七章主要内容为慢病毒与宿主的相互作用，包括慢病毒复制过程中的微管依赖性运输、慢病毒感染与细胞凋亡、慢病毒潜伏感染机制、超感染机理等；第八章和第九章介绍整合酶结构生物学及基于慢病毒的抗 AIDS 药物筛选体系；第十章和第十一章介绍作者在嵌合慢病毒方面的工作。

至于泡沫病毒，作者关注它的原因有三点。首先是非致病性。泡沫病毒在体外可感染多种细胞并导致宿主细胞发生强烈病变，然而迄今未发现其对天然宿主具有致病性，仅保持持续性感染并伴随宿主终身。为什么泡沫病毒体外培养与天然宿主间致病性的差异如此之大？泡沫病毒体外培养引发强烈细胞病变的现象是否预示着它具有引发新的传染病的潜在危险？其次是泡沫病毒独特的基因表达调控方式。泡沫病毒基因

组中具有两个启动子，两个启动子间如何协调调节基因组的表达和病毒的复制？多数反转录病毒由不同的调节蛋白分别在转录和转录后水平调节基因的表达，而泡沫病毒只编码 Tas 转录调节蛋白，没有类似 Rev/Rex 的转录后调节蛋白。泡沫病毒这些独特的调控方式和非致病性在构建安全有效的新型病毒载体方面有何种意义？最后是泡沫病毒在进化中的独特地位。泡沫病毒在复制过程中部分基因组 cDNA 可以被包装进毒粒之中，某些特点与嗜肝 DNA 病毒很类似。泡沫病毒与其他反转录病毒明显不同的复制特点及调控方式是否意味着它可能是两类重要致病病毒——正反转录病毒与嗜肝 DNA 病毒之间进化的桥梁？如果是，又如何解释它的不致病性？

本书的下篇重点介绍了作者针对以上科学问题在泡沫病毒研究方面的部分结果。其中，第十二章和第十三章对泡沫病毒（主要是作者所在实验室分离的牛泡沫病毒中国毒株）的分子生物学特征做概括介绍；第十四章至第十八章主要内容为泡沫病毒在感染过程中与宿主细胞的相互作用，包括泡沫病毒通过活化细胞信号通路促进自身基因组的转录、宿主蛋白调控泡沫病毒潜伏感染的分子机制、干扰素诱导蛋白通过与泡沫病毒调控蛋白相互作用抑制病毒的复制、microRNA 调控泡沫病毒的转录与复制等。

本书的大部分内容已在国际期刊发表。显然，作者在慢病毒和泡沫病毒方面的研究还是初步的，要回答前面提到的科学问题，还有待于与国际同行一起继续探索和努力。目前有关动物慢病毒和泡沫病毒的研究严重滞后于其他致病性病毒，南开大学分子病毒学实验室是国际上少数几个长期从事牛免疫缺陷病毒和牛泡沫病毒系统研究的实验室之一，因此，本书的大部分内容基本反映了该领域的研究进展。也正因为如此，本书的某些结论或许是不全面的，至少不是唯一的，有的也许是错误的，希望得到学术界同行的指正。

参与本书撰写工作的有乔文涛、孔晓红、邓刚、苏旸、宣成昊、刘畅、刁丽榕、姚雪、王书晖、李悦、吴颖运、谈娟、王金忠、王健、吴亚锋、刘丰雯、刘力、常锐博士，耿运琪、陈启民、曾毅、王琛、邵一鸣、周军、沈月全教授参与了本书的审阅工作。书中部分章节引用了梁臣、刘淑红、刘佳建、余荭、朱义鑫、刘强、杨怡姝博士的工作成果，刘瑞康博士参与了书稿的校对工作，一并表示感谢。

我和我的同事特别感谢国家自然科学基金委员会。在一度浮躁的大环境下，能 20 年集中在有限的研究目标，特别是对被人们长期冷落的动物慢病毒和泡沫病毒进行系统研究，只凭科学家的兴趣是不够的。过去 20 年，我们得到十多项基金的连续支持。正是国家对基础研究的重视，国家自然科学基金委员会历届领导（他们既是某一领域的专家，也是优秀的战略科学家）的远见卓识，我们才有可能踏下心来在慢病毒和泡沫病毒领域坚持长期的探索。这种坚持，也成就了南开大学今天的分子病毒学学科和研究团队。

感谢曾毅院士、田波院士、饶子和院士和 Charles Wood 教授为本书作序。

最后，我要感谢科学出版社，正是科学出版社同仁对科学事业的高度责任感和对科学家劳动成果的极大尊重才使本书得以出版。夏梁编辑为本书的编排和文字处理付出了辛勤的劳动，特表示由衷的感谢！

耿运琪

2011 年 7 月

目 录

序一	
序二	
序三	
序四	
前言	

上篇 慢病毒分子生物学

第一章 反转录病毒	3
第一节 反转录病毒的分类与进化	3
一、反转录病毒的分类	3
二、反转录病毒的进化关系	5
第二节 反转录病毒的结构	6
一、病毒颗粒的超微结构	6
二、病毒基因组的结构	7
第三节 反转录病毒的生活周期	9
一、反转录病毒的进入和脱衣壳	9
二、反转录	11
三、整合	12
四、病毒 RNA 和蛋白质的合成及加工	13
（一）病毒基因组 RNA 及 mRNA 的产生	15
（二）病毒蛋白的合成及加工	15
五、病毒颗粒的装配、释放和成熟	18
第四节 反转录病毒基因表达与调控	19
一、反转录病毒转录的启动子	19
二、反转录病毒转录水平的调控	20
三、转录后水平的调控	20
四、翻译水平的调控	21
五、翻译后水平的调控	22
六、宿主抗反转录病毒因子	22
第五节 反转录病毒引发的疾病	23
一、复制型反转录病毒引起的疾病	24
（一）插入激活导致的白血病	24
（二）病毒致病性因子	25
二、其他反转录病毒引起的疾病	25
参考文献	25

第二章 人免疫缺陷病毒及动物慢病毒概述	31
第一节 人免疫缺陷病毒	31
一、人免疫缺陷病毒的结构	32
(一) 毒粒结构	32
(二) 基因组结构	33
(三) 基因亚型	34
二、人免疫缺陷病毒的生活周期	35
三、人免疫缺陷病毒的嗜性和分类	39
四、人免疫缺陷病毒的基因表达调控	40
(一) HIV 的启动子	40
(二) HIV 基因组 RNA 及 mRNA 的合成	41
(三) HIV 的调控蛋白 Tat 和 Rev	42
(四) HIV 的辅助蛋白	43
五、HIV-1 感染与 AIDS	44
第二节 人免疫缺陷病毒复制适应性及其在母婴传播中的作用	45
一、人免疫缺陷病毒母婴传播的流行及影响因素	45
(一) 人免疫缺陷病毒母婴传播流行趋势	45
(二) 人免疫缺陷病毒母婴传播途径	46
(三) 人免疫缺陷病毒母婴传播的影响因素	48
二、人免疫缺陷病毒复制适应性在母婴传播中的作用	49
(一) 人免疫缺陷病毒复制适应性的概念及系统建立	49
(二) 人免疫缺陷病毒母婴传播病毒复制适应性靶细胞的选择及其应用	51
(三) 高病毒复制适应性是人免疫缺陷病毒母婴传播的固有特征且由包膜蛋白 gp120 V1~V5 决定	52
三、人免疫缺陷病毒母婴传播存在选择性传播	54
(一) 传播病毒包膜蛋白 gp120 V1~V5 多样性及其糖基化位点数目具有选择性	54
(二) 传播病毒的复制适应性具有高选择性及选择性传播的可能机制	56
第三节 动物慢病毒及牛免疫缺陷病毒	57
一、动物慢病毒的进化	58
二、动物慢病毒的致病性	59
三、牛免疫缺陷病毒	60
(一) 牛免疫缺陷病毒的发现、培养特征和基因组结构	60
(二) 牛免疫缺陷病毒中国毒株 BIV92044	61
(三) 牛免疫缺陷病毒变种 Jembrana disease virus	62
参考文献	63
第三章 慢病毒的转录调控——Jembrana 病毒反式激活因子的调控机制	74
第一节 Jembrana 病毒的分子生物学特征	75
一、JDV 的基因组结构	75
二、JDV 的长末端重复序列	76
三、JDV 的结构蛋白	76

(一) Gag	76
(二) Pol	77
(三) Env	77
四、JDV 的非结构蛋白	77
第二节 慢病毒 Tat 的反式激活作用	78
一、HIV Tat 的结构和功能	78
二、Tat-TAR 间的相互作用	80
三、P-TEFb 对 RNA 聚合酶 II 转录的影响	82
四、Tat 与乙酰化酶的关系	84
五、BIV Tat 的反式激活	85
第三节 JDV Tat 功能域的精确划分	86
一、jTat 生物信息学分析	86
(一) jTat 的基本性质	86
(二) jTat 磷酸化修饰预测	87
(三) jTat 与 bTat 和 hTat 序列对比	87
(四) JDV 和 BIV LTR 同源性的比较	87
(五) jTat 反式激活能力的初步验证	88
二、jTat 核心域的界定	88
(一) jTat 核心功能域 N 端边界	89
(二) jTat 核心功能域 C 端边界	90
(三) jTat 激活域与结合域边界的划分	91
三、jTat C 端具有较强的 RNA 结合能力	92
(一) hTat 和 bTat 活性的验证	92
(二) 三种 Tat 间嵌合蛋白的构建	93
(三) jTat 结合域突变体的构建	94
(四) 嵌合蛋白及突变体的功能验证	95
(五) JH 没有活性与结合域完整性及细胞因子无关	96
四、jTat 激活时采用与 hTat 激活类似的细胞因子	98
(一) jTat 和 hTat 激活域对两种 Tat 活性具有抑制作用	98
(二) 过量 T1 和 CDK9 不能增强 jTat 激活能力	99
(三) T1 和 CDK9 反义转译质粒抑制 jTat 的激活能力	100
五、jTat N 端激活域能与细胞因子直接结合	101
(一) jTat 激活域具有独立的活性	101
(二) 真核双杂系统相关质粒构建	102
(三) jTat 激活域能与 Cyclin T1 相互作用	105
(四) 完整的 jTat 激活域是其与 Cyclin T1 相互作用的关键	105
第四节 jTat 激活域 N 端是其具有广泛活性的关键	107
一、JB 能激活 JDV 和 HIV LTR	107
二、jTat 激活域能利用不同 T1 激活 HIV LTR	108
三、jTat 活性受 N 端, 而非 C 端融合蛋白的影响	109
四、N 端缺失 1~15 位氨基酸不影响 jTat 与 T1 的相互作用	110
五、jN21-hTat 能激活三种 LTR	111

(一) jTat N 端与 bTat 和 hTat 融合蛋白的构建	111
(二) jN21-hTat 能激活三种 LTR	112
(三) jTat 发挥多效性的可能作用模式	112
第五节 jTat 能直接穿膜并影响胞内基因表达	113
一、Tat 穿膜能力及其影响	114
(一) 关于 HIV Tat 穿膜的研究	114
(二) 与 Tat 类似的 DNA/RNA 结合多肽	114
(三) 寡聚精氨酸多肽链的穿膜能力	115
(四) 富含精氨酸多肽穿膜的可能机理	116
(五) Tat 穿膜作用对宿主的影响	116
二、jTat 具有直接穿膜的能力	117
(一) EGFP-jTat 能直接穿越质膜进入细胞	117
(二) EGFP-jTat 在细胞中的定位	119
(三) EGFP-jTat 的穿膜是时间和剂量依赖性的	120
(四) EGFP-jTat 穿膜是内吞和能量非依赖性的	121
(五) 精氨酸是 jTat 穿膜的关键氨基酸	123
三、jTat 影响胞内基因表达	125
(一) 胞外的 jTat 能激活胞内的 JDV LTR	125
(二) 胞外 jTat 能激活胞内的 NF- κ B 应答元件	125
第六节 小结	127
参考文献	129
第四章 慢病毒复制——牛免疫缺陷病毒的微管依赖性运输	137
第一节 病毒运输的重要轨道——微管	137
一、细胞骨架概述	138
二、微管的结构	138
三、微管组织中心	139
四、微管的极性	140
五、微管动力学	141
六、微管相关蛋白	142
七、微管马达蛋白	142
(一) 马达蛋白概述	142
(二) 微管与细胞内物质运输	143
(三) 胞质动力蛋白的结构和功能	143
(四) 驱动蛋白的组成和功能	145
(五) 马达蛋白与病毒蛋白的相互作用	146
第二节 几种典型病毒的运输	147
一、HIV-1	147
(一) HIV-1 在感染早期的运输中与细胞骨架的相互作用	147
(二) HIV-1 在感染晚期的运输中与细胞骨架的相互作用	149
二、人泡沫病毒	150
三、牛痘病毒	150

四、腺病毒Ⅱ型	151
五、单纯疱疹病毒Ⅰ型	151
第三节 微管和马达蛋白在 BIV 反向运输中的作用	153
一、微管对 BIV 的感染具有重要作用	153
(一) BIV 指示细胞系的构建原理	153
(二) BIV 完成生活周期需要微管的参与	154
(三) BIV 感染的早期事件需要微管的参与	155
二、BIV 对微管动力学的调节	157
(一) BIV 感染保护微管不被解聚	157
(二) BIV 促进微管的稳定性	158
三、BIV 反向运输依赖于微管	158
(一) BIV 感染早期病毒颗粒的亚细胞定位	158
(二) BIV 的反向运输需要微管参与	159
(三) 微管是 BIV 反向运输的通道	161
四、BIV 反向运输依赖于 dynein	161
(一) BIV 的感染需要 dynein 的功能	161
(二) BIV 的反向运输是由 dynein 介导的	162
第四节 牛免疫缺陷病毒微管运输的分子机制	164
一、BIV CA 与 dynein 轻链亚基 LC8 存在相互作用	164
(一) 筛选病毒蛋白与 dynein 亚基的相互作用	164
(二) CA 与 LC8 在体内、体外和病毒感染中都存在相互作用	165
(三) CA 蛋白中 LC8 结合区域的界定	167
二、LC8 是介导 BIV 反向运输的关键	168
(一) LC8 对 BIV 的感染必不可少	168
(二) BIV 的反向运输需要 LC8	169
(三) LC8 是连接病毒颗粒与微管和 dynein 的纽带	170
三、病毒早期运输受阻会推迟病毒复制	172
(一) 微管药物可以使病毒复制推迟	172
(二) LC8 基因沉默使病毒复制严重推迟	173
第五节 牛免疫缺陷病毒与其他病毒运输机制的比较	175
一、BIV 感染早期事件揭秘	175
二、BIV 反向运输的独特性	176
(一) BIV 感染早期对微管依赖性更强	176
(二) BIV 微管运输的效率不如 HIV-1	176
(三) BIV 对微管具有独特的调节作用	176
(四) 不依赖于微管的病毒运输	177
三、病毒蛋白与马达蛋白的相互作用	177
(一) dynein 是病毒反向运输的通用马达	177
(二) 病毒货物的多样性	178
(三) 结合 LC8 是偶然还是必然	178
四、“以毒攻毒”的策略	179
第六节 小结	180
参考文献	181

第五章 慢病毒与细胞凋亡——牛免疫缺陷病毒反式激活因子诱导细胞凋亡的分子机制	187
第一节 病毒与细胞凋亡	187
一、caspase 家族和 caspase 信号通路	187
二、微管与细胞凋亡	189
三、病毒与细胞凋亡	189
(一) 病毒与细胞凋亡	189
(二) HIV 与细胞凋亡	195
第二节 BIV 感染引起细胞凋亡	196
第三节 BTat 和 JTat 蛋白引发细胞凋亡	199
一、BTat 蛋白引发细胞凋亡	199
二、JTat 蛋白诱导细胞凋亡	202
三、BTat、JTat 激活 Caspase 信号通路	204
第四节 BTat、JTat 影响微管的动力学	206
一、BTat、JTat 与微管蛋白及微管的相互作用	206
二、BTat、JTat 促进微管聚合	210
三、BTat、JTat 增加微管的稳定性	212
第五节 Bim 介导了 JTat 所引发的细胞凋亡	213
一、JTat 引发的细胞凋亡与 JTat 干扰微管动力学具有相关性	213
二、JTat 与其他微管相关蛋白及试剂在诱导凋亡上具有相似性	214
三、Bim 介导了 JTat 引发的细胞凋亡	215
第六节 小结	216
一、病毒与细胞凋亡	217
二、BTat、JTat 与细胞凋亡	218
三、BTat、JTat 与微管	219
四、微管相关因子 Bim 介导了凋亡的发生	219
参考文献	220
第六章 慢病毒的潜伏机制——干扰素刺激基因产物 bISG15 与牛免疫缺陷病毒的潜伏感染	224
第一节 干扰素刺激基因表达蛋白 bISG15	224
一、干扰素刺激基因表达蛋白	225
二、牛干扰素刺激基因 15 蛋白——bISG15	226
第二节 胎牛肺细胞 (FBL) 中 bISG15 的表达	228
一、LPS 和 poly I: C 可以提高 FBL 中 bISG15 的表达	228
二、IRF-3 参与 polyI: C 激活 bISG15 表达	230
第三节 FBL 中 BIV 与 bISG15 的相互影响	234
一、BIV 感染 FBL 可以刺激 bISG15 表达增加	234
二、bISG15 过表达可以抑制 FBL 中 BIV 的复制	235
三、BIV 的 Tat 可以抑制 IRF-3 对 bISG15 表达的激活	237
四、bISG15 在 BIV 潜伏感染中的可能作用	238