

检测方面有着巨大的发展潜力。已发现能产生表面增强拉曼散射的金属有Ag、Au、Cu以及Pt等少数金属，以Ag的增强效应为最佳，最为常用。此技术具有选择性好和灵敏度高的优点，实际检测限可达 $10^{-12}$ 克级。它还可以区分同分异构体、表面上吸附取向不同的同种分子等，是研究表面和界面过程的重要工具，是定性鉴定化学结构相近化合物的有力手段。可用作液相色谱分析的检测器。在环境化学、生物化学中有机化合物的分析已有广泛应用。

### 3 介电性能 (dielectric properties)

介电性能是指在电场作用下，表现出对静电能的储蓄和损耗的性质，通常用介电常数和介质损耗来表示。材料应用高频技术时，如实木复合地板采用高频热压时，介电性能是非常重要的性质。

### 4 光漂白 (photonic bleaching)

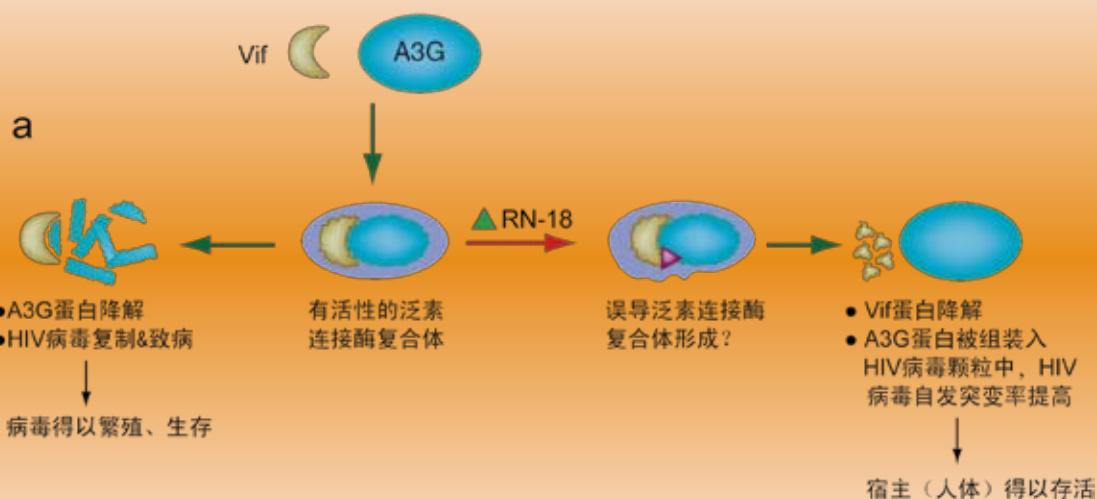
光漂白是指在光照条件下使其发生化学反应或是构象改变而失去散发荧光的特性，就是所谓的漂白。它常用于生物体内扩散速率常数的测定。

## 能增强人体APOBEC介导抗HIV免疫活性的小分子

### ——RN-18

RN-18通过干扰HIV病毒的Vif蛋白从而提高人APOBEC3G蛋白的抗HIV病毒活性。

**在**人们寻找新型抗HIV病毒药物的过程中，人类抗病毒蛋白载脂蛋白B mRNA编辑酶催化多肽3G（APOBEC3G，简称A3G，小词典1）和来自HIV病毒的“对手”Vif蛋白都成为了最近的研究热点。本文将详细介绍Nathans等人最新发现的能帮助A3G对抗Vif蛋白、抑制HIV病毒感染的小分子——RN-18。RN-18的发现使人们确信，的确是有针对A3G-Vif途径的小分子存在，这些小分子有助于帮助机体对抗病原体的感染。



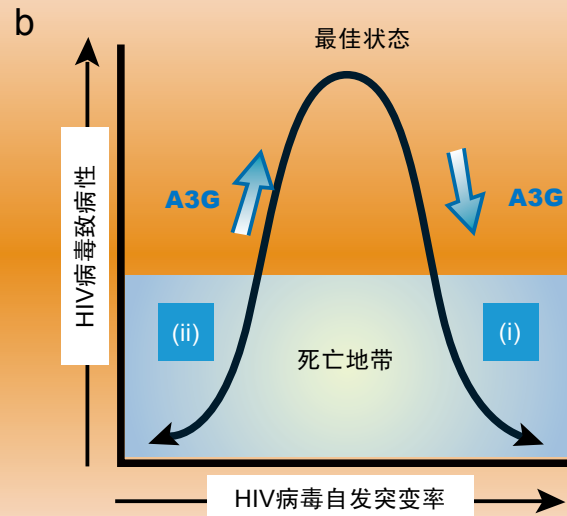


图1 图示A3G-Vif作用机制

a: 感染HIV病毒的细胞内A3G蛋白和Vif蛋白之间相互作用的分子机制。通常情况下，Vif蛋白与A3G蛋白结合，形成泛素连接酶复合体，从而降解A3G蛋白，促使HIV病毒致病，如a中左侧所示。而小分子RN-18的存在，则会抵抗Vif蛋白的这种作用，抑制A3G蛋白的降解，限制HIV病毒的复制，如a中右侧所示。

b: HIV病毒致病性与其自发突变率之间的关系。通常情况下，HIV病毒有一个最佳自发突变率，而此时它的致病性也是最高的。因此，不论是提高它的自发突变率(i)还是降低它的自发突变率(ii)都会降低HIV病毒的致病性，甚至会将病毒复制引入“死亡地带”。

(i) 中所示HIV病毒自发突变率大大提高会导致病毒死亡，这与A3G蛋白的DNA脱氨基酶导致C→U突变，继而导致G→A超突变从而抑制病毒复制的实验结果是一致的。

(ii) 中所示HIV病毒自发突变率大大降低会导致病毒死亡，人们推测这是因为如果缺乏A3G蛋白的致突变作用，HIV病毒就无法有效地自发突变，也不能逃避机体的适应性免疫反应，因此也就无法存活。

病毒感染因子Vif (virion infectivity factor, 病毒感染因子) 是HIV病毒编码的一种蛋白质，分子量为23kD，它对于HIV在外周血淋巴细胞、巨噬细胞以及一些特定细胞中的复制是必需的。Vif蛋白能引发A3G蛋白的降解(图1a)。但是，当Vif蛋白缺失或者失活时，A3G蛋白就会进入病毒颗粒，并在HIV病毒逆转录过程中诱发生成cDNA负链中的胞嘧啶(C)大量脱氨基化而突变为尿嘧啶(U)，即C→U突变，继而导致以负链为模板的cDNA正链大量鸟嘌呤(G)突变为腺嘌呤(A)，即产生G→A超突变。

这种C→U超突变可能会导致以下结果：

(1) 宿主尿嘧啶DNA糖基化酶(UDG)可识别并降解新合成病毒DNA链中的尿嘧啶，产生无嘌呤嘧啶的AP位点，导致病毒基因组DNA被分割和降解；

(2) 含有尿嘧啶的负链cDNA在合成正链时受到阻碍；

(3) 若逆转录过程逃过上述机制，合成了含有尿嘧啶的双链cDNA，则启动DNA修复机制，将U

变为T，那么在正链cDNA上就会形成G→A超突变，大量G→A超突变可造成病毒基因终止密码子出现的频率大大增加，使得HIV编码的蛋白功能丧失或降低，而使病毒丧失活性。

也就是说，当Vif蛋白缺失或者失活时，A3G就能大大削弱HIV病毒的侵染能力。

Nathans等人使用被黄色荧光蛋白(YFP)标记的A3G蛋白在细胞内进行了大范围的筛查，希望找到能干扰Vif蛋白介导的A3G蛋白的降解途径的细胞分子。他们一共筛查了接近三万种分子，结果找到了几十种具有干扰作用的细胞小分子。其中，他们深入研究了一种名为RN-18的小分子。

在能表达A3G的人T细胞系CEM和H9细胞中，RN-18分子能明显抑制HIV病毒的复制，不过这种抑制作用具有剂量依赖性。而在不表达A3G蛋白的人T细胞系CEM-SS细胞和MT-4细胞中，RN-18分子就没有这种抑制HIV病毒复制的功能了。但如果在这两种细胞里人工稳定表达A3G蛋白，RN-18分子也能行使诱导抗HIV病毒复制的功能。细胞内RN-18分子和A3G蛋白同时存在时，新生HIV病毒

颗粒的感染性降低了，而HIV病毒编码序列的碱基突变率明显增大，这与高自发突变率（hypermutation）所导致的抗病毒作用机制是一致的（图1b（i））。

那么，RN-18分子究竟如何抑制Vif蛋白介导的A3G蛋白的降解从而激活A3G蛋白的抗病毒活性的呢？有几项证据显示RN-18分子是Vif蛋白的“对手”，而且它的作用机制很可能是一种人们以前所不了解的新型作用机制（图1a）。

### RN-18分子的新型作用机制探究

首先	被HIV病毒感染的细胞如果与RN-18分子共孵育，那么细胞内的A3G蛋白水平就会高于没有与RN-18分子共孵育的被感染细胞，这也与先前的筛查结果一致。不过这些被感染细胞中的A3G蛋白水平还是没有未受感染细胞中的A3G蛋白水平高，这也说明HIV病毒感染或RN-18分子都无法诱导A3G蛋白表达；
其次	被HIV病毒感染的细胞如果与RN-18分子共孵育还会致使胞内Vif蛋白水平下降，不过这种Vif蛋白水平下降的现象只有在有A3G蛋白或者其它APOBEC3蛋白家族成员（例如APOBEC3C或者APOBEC3F）存在的条件下才会表现出来，因为这些蛋白都能与Vif蛋白结合。这条作用机制也可能是RN-18分子诱导机体抗HIV病毒感染机制中最重要的一条作用机制；
最后	无法与Vif蛋白结合的A3G蛋白突变体（D128K），或者本身就不能与Vif蛋白结合的野生型APOBEC3B蛋白都无法导致Vif蛋白水平下降。因此，细胞内A3G蛋白量和Vif蛋白量之间这种此消彼长的关系，以及明显需要RN-18分子这些“中间人”等证据表明RN-18分子促进了与APOBEC3蛋白家族成员结合的Vif蛋白分子的降解。这可能是由于Vif蛋白和A3G蛋白结合以后，构像改变，暴露出切割位点，被依赖RN-18分子的蛋白降解途径给降解了。

不过这一新型分子机制还需要更多的试验加以丰富、验证。那么蛋白酶在Vif蛋白降解过程中扮演了什么角色呢？蛋白酶抑制剂在有RN-18分子和A3G蛋白共存的情况下能保护Vif蛋白免遭降解吗？在正常情况下，由于Vif蛋白会激活泛素连接酶复合体形成，通过泛素途径降解APOBEC3家族蛋白，因此有人设想是不是RN-18分子将这种泛素化降解作用导向了Vif蛋白，或者通过与A3G蛋白结合保护了A3G蛋白免遭泛素途径降解。而且在这一途径中究竟有没有泛素连接酶复合体的组成成分参与呢？HIV病毒是否会进化出抵抗RN-18分子的机制呢？如果是这样，那么对这种能抵抗RN-18分子的HIV病毒vif基因（小词典2）或者其它基因进行测序，也许能找到Vif蛋白和RN-18分子的结合位点，或者其它更多的信息，从而发现RN-18分子抑制HIV病毒复制的机制。

不论RN-18分子是否最终能够发展成为有效的抗HIV病毒药物，它都证明了A3G-Vif途径是一条非常重要的潜在药物作用靶点。现在，科学家也基于RN-18分子开发了一系列的抗HIV病毒药物，例如锌

螯合剂（zinc-chelators）、多肽以及单克隆抗体等等。这些药物中总有一些将来会成为新型的抗HIV病毒药物。毫无疑问，还有一些药物将会用于研究A3G-Vif途径。此外，一些药物可能能够用于治疗那些对APOBEC3家族蛋白有抵抗作用的病毒感染，例如乙肝病毒（hepatitis B virus）或人乳头瘤病毒（human papillomavirus）感染等。

由于HIV病毒基因组具有极高的突变率，因此它也被称作遗传学上的“变色龙”。正是因为HIV病毒的高突变率，所以它很快就会对HIV病毒药物发展出抗药性，逃避机体适应性免疫反应，使疫苗失效。上面提到的对A3G蛋白抗病毒机制的研究都是基于这样一种理论，当HIV病毒基因组复制的自发突变率高到一定程度以后，它的基因组中就会累积大量的突变，导致HIV病毒无法继续复制、生存，陷入“遗传错误的深渊”而无法自拔（见图1b（i））。因此，基于这种高自发突变抗病毒机制的A3G蛋白作为抗HIV病毒药物的前景是非常光明的，也是值得投资的。

不过值得注意的是，任何对A3G蛋白具有调控作用的药物可能都会给机体带来一定的副作用。

	副作用	解决办法
首先	A3G蛋白的脱氨基酶（deaminase）活性对于人体细胞基因组的稳定就是一大挑战，不过幸亏A3G蛋白位于细胞质中，所以这还不算太大的问题；但是，如果有一部分A3G蛋白进入了核内，它也会导致人体细胞基因组的C/G碱基对突变成T/A碱基对，造成染色体水平大范围的异常；	尽可能避免它带来的副作用，例如诱导癌症发生或者促进病毒进化；
其次	如果A3G蛋白量不够，那么它不仅不能发挥抗病毒复制的作用，反而还有可能增强病毒逃避机体免疫反应的能力以及对传统抗病毒药物的抗药性。	对于A3G蛋白相关药物的应用需要掌握一个平衡，要发挥它正面的作用来限制HIV病毒的复制。

除上述所述机制外，还有一条与A3G蛋白及其逆转录病毒APOBEC3家族成员相关的具有潜力的抗病毒机制，那就是HIV病毒的低自发突变率（hypomutagenesis）（图1b(ii)）。这一机制的提出是基于A3G、APOBEC3F以及其它APOBEC3家族成员极有可能对HIV维持最佳突变率有着极为重要的作用。

例如，在HIV病毒感染期间有几个时段Vif蛋白无法充分抑制A3G蛋白的抗病毒作用，这可能是由于Vif蛋白发生了突变无法有效促进A3G蛋白的降解；也可能是新感染的细胞只刚刚产生了第一个新生病毒颗粒，所以Vif蛋白量还不足以充分抑制A3G蛋白的抗病毒作用；更有可能是由细胞内A3G蛋白本身表达上调而造成。结合之前所述的Vif蛋白能引发A3G蛋白的降解（图1a），我们可以推测，A3G蛋白与Vif蛋白的比例是在不断变化的，经常会导致有许多新生病毒颗粒内仅含较少的、未达致死量的A3G蛋白，从而使病毒获得最佳自发突变率（见图1b）。

我们相信，细胞内A3G蛋白和Vif蛋白之间这种精妙的平衡关系绝不是一种偶然现象。而且不断有实验证据表明，HIV病毒进化出Vif蛋白并非特意用来抑制A3G蛋白和细胞，而是用于调节A3G蛋白和

细胞。最直接的实验证据就是HIV复制过程中最常见的自发性突变就是G→A的碱基突变。几乎所有的慢病毒科病毒都编码Vif蛋白，但是奇怪的是，只有能表达APOBEC3蛋白家族的哺乳动物才会受慢病毒侵袭。

综上所述，我们可以得出一个假设，HIV病毒和其它慢病毒科病毒实际上都需要APOBEC3蛋白家族的帮助以提高它们的自发突变率来获得生存优势。其实可以很容易用实验验证这一假说，只需要将A3G蛋白的功能完全抑制掉，我们就会发现，HIV病毒在复制过程中自发突变的现象明显减少，即它们在遗传学上变得更加稳定。但是HIV病毒自发突变率哪怕只降低一点点都会使其受到机体适应性免疫反应（adaptive immune responses）的攻击，即抗体介导的以及细胞毒性T细胞介导的免疫反应。这就意味着HIV病毒被带到了图1b(ii)中所示的“死亡地带”。因此虽然看起来很矛盾，但抑制A3G蛋白的逆转录病毒活性的确也是一条有效的治疗艾滋病患者的途径。对于HIV病毒的生存来说，A3G蛋白究竟是提高它复制的突变率更好还是降低它复制的突变率更好，这将成为人们在今后未来几年里的研究热点。



原文检索：

Reuben Harris. (2008) Enhancing immunity to HIV through APOBEC. *Nature Biotechnology*, 26(10), 1089-1090.

褚小刚. 新型抗病毒因子 APOBEC3G 研究进展. [http://www.gs.whu.edu.cn/journal/medicine/%E6%AD%A6%E6%B1%89%E5%A4%A7%E5%AD%A6%E7%A0%94%E7%A9%B6%E7%94%9F%E5%AD%A6%E6%8A%A5\(%E5%8C%BB%E5%AD%A6%E7%89%88\)/200601/25.htm](http://www.gs.whu.edu.cn/journal/medicine/%E6%AD%A6%E6%B1%89%E5%A4%A7%E5%AD%A6%E7%A0%94%E7%A9%B6%E7%94%9F%E5%AD%A6%E6%8A%A5(%E5%8C%BB%E5%AD%A6%E7%89%88)/200601/25.htm), 2009/2/26.

### 1 载脂蛋白B mRNA编辑酶催化多肽3G

(apolipoprotein B-editing catalytic polypeptide 3G, APOBEC3G, A3G)

A3G又称CEM15，是一种胞嘧啶脱氨酶，它能使逆转录病毒HIV-1基因组发生G→A的碱基突变，致使HIV基因组无法执行正常的功能从而抑制HIV-1的复制。此外，APOBEC3G还具有广谱抗病毒作用。

APOBEC3家族成员，主要表达于淋巴细胞和骨髓细胞谱系，APOBEC3G基因位于人的第22号染色体长臂22q13.1-q13.2，含有8个外显子和7个内含子，cDNA长度1155bp，编码384个氨基酸，其中第128—194位和第320-380位氨基酸残基为两个重要的活性功能区：锌离子结合功能区和水解酶功能区。研究显示除APOBEC3G外，APOBEC3家族其它成员APOBEC3B、APOBEC3F等均有很强的抗逆转录病毒活性。

所谓RNA编辑，指转录后mRNA发生特异性位点的核苷酸改变，结果产生无义突变或错义突变而导致mRNA编码容量的变化。

### 2 vif基因

vif基因又称HIV病毒感染因子，能编码23kD蛋白，增强病毒的感染性，但无法提高病毒颗粒产量。Vif蛋白主要的功能是调节病毒复制、组装、出芽，成熟的Vif蛋白可以特异性地与蛋白酶相互作用。Vif蛋白是体内决定HIV-1传染性的重要因素，Vif缺陷的HIV-1株在一些T细胞系内无法复制，缺乏功能性Vif蛋白的病毒颗粒能够结合和穿透易感细胞，但无法合成病毒前DNA。而且Vif蛋白可结合APOBEC3G，并激活泛素-蛋白酶体途径，使之降解，拮抗APOBEC3G的抗病毒活性。因此，阻止Vif表达的策略有望治疗HIV-1感染。

科研综述 研究前沿 热点话题  
技术方法 专题综述 生命百态  
会议展览 教学视频



www.LifeOmic.com