

## 向焯等揭示细菌病毒突破宿主细胞内膜新机制

### Ye Xiang resolved the new mechanism of bacteriophage using for cell membrane penetration

2016年6月23日，国际学术权威刊物自然出版集团《Nature》杂志发表了清华大学医学院向焯研究组题为“The bacteriophage  $\phi$  29 tail knob protein possesses a pore-forming loop for cell membrane penetration”(噬菌体  $\phi$  29 尾部蛋白含有一段用于穿透细胞膜的孔道形成环绊)的研究论文，论文揭示了细菌病毒突破宿主细胞内膜新机制。博士生许靖蔚为第一作者，向焯博士为论文通讯作者。

论文通过对细菌病毒  $\phi$  29 尾部蛋白 gp9(gene protein 9)结构及生化研究，发现病毒利用 gp9 的一段疏水性肽段在宿主细胞膜上形成孔道，并通过其注射基因组 DNA 入宿主细胞内。

细菌病毒(又名噬菌体)  $\phi$  29 属于双链 DNA 病毒，其通过自身的非收缩性短尾特异性侵染宿主枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)。属于革兰氏阳性菌的枯草芽孢杆菌由细胞壁和细胞质膜包裹帮助自身抵御外界因素的干扰及病毒入侵。噬菌体首先需要克服细胞壁和细胞膜的阻碍，才能将遗传物质注入宿主进行复制和重新组装。 $\phi$  29 及其它大多数噬菌体通过尾部蛋白肽聚糖水解酶对细胞壁进行局部水解而突破细胞壁，然而噬菌体突破细菌细胞质膜并释放其遗传物质到宿主体内的机制知之甚少。

通过比较噬菌体  $\phi$  29 尾部末端蛋白 gp9 全长和突变体 gp9 $\Delta$ 417-491 的晶体结构，向焯实验组发现 gp9 蛋白能够形成六聚体通道结构。相对于 gp9 $\Delta$ 417-491，全长 gp9 通道内部被一段疏水性肽段(L loop)所填充。在  $\phi$  29 感染过程中，这段疏水性肽段必须从 gp9 通道中释放出来，病毒 DNA 才能通过通道注入宿主细胞。对该肽段氨基酸同源序列搜索发现该肽段与 HIV 病毒及流感病毒的融合肽段(fusion peptide)氨基酸序列性质相似。这说明  $\phi$  29 的这段疏水性肽段很可能与细胞膜作用。比较噬菌体  $\phi$  29 在 DNA 释放前后的尾部通道结构的冷冻电镜三维重构结果，发现 DNA 释放后，该疏水性肽段能够从 gp9 形成的通道内部翻转，在尾末端形成一个独立的新的孔道。当与脂质体混合并经过酸处理诱导 DNA 释放后，通过冷冻电镜观察到噬菌体  $\phi$  29 整齐排列在脂质体周围，且脂质体内部有噬菌体 DNA。电镜重构结构显示尾部新暴露出的疏水肽段插入脂质体上形成跨膜孔道供 DNA 通过。这一以形成跨膜孔道突破细胞膜的机制与一些真核病毒如腺病毒类似，表明虽然真核病毒和原核病毒在形态结构及入侵机制上有着较大的区别，针对同一障碍的趋同进化过程使得它们形成类似的机制克服宿主细胞膜障碍。



The bacteriophage  $\phi 29$  tail possesses a pore-forming loop for cell membrane penetration

噬菌体  $\phi 29$  尾部蛋白含有一段用于穿透细胞膜的孔道形成环状

清华大学 向焯

2016年6月23日

doi:10.1038/nature18017

Most bacteriophages are tailed bacteriophages with an isometric or a prolate head attached to a long contractile, long non-contractile, or short non-contractile tail. The tail is a complex machine that plays a central role in host cell recognition and attachment, cell wall and membrane penetration, and viral genome ejection. The mechanisms involved in the penetration of the inner host cell membrane by bacteriophage tails are not well understood. Here we describe structural and functional studies of the bacteriophage  $\phi 29$  tail knob protein gene product 9 (gp9). The 2.0 Å crystal structure of gp9 shows that six gp9 molecules form a hexameric tube structure with six flexible hydrophobic loops blocking one end of the tube before DNA ejection. Sequence and structural analyses suggest that the loops in the tube could be membrane active. Further biochemical assays and electron microscopy structural analyses show that the six hydrophobic loops in the tube exit upon DNA ejection and form a channel that spans the lipid bilayer of the membrane and allows the release of the bacteriophage genomic DNA, suggesting that cell membrane penetration involves a pore-forming mechanism similar to that of certain non-enveloped eukaryotic viruses. A search of other phage tail proteins identified similar hydrophobic loops, which indicates that a common mechanism might be used for membrane penetration by prokaryotic viruses. These findings suggest that although prokaryotic and eukaryotic viruses use apparently very different mechanisms for infection, they have evolved similar mechanisms for breaching the cell membrane.