

## 磷酸化病毒蛋白的生物学功能及形成机制

李芒芒 周倩 王鹏 李国辉\*

(江苏大学 生命科学研究院 江苏 镇江 212013)

**摘要:** 磷酸化是病毒蛋白常见的一种翻译后修饰,在调控病毒与宿主的代谢中起重要作用。生物体内的代谢活动与细胞内的信号转导密切相关,通过磷酸化和去磷酸化修饰可改变蛋白生物活性,从而调控胞内生物信号的传递。磷酸化修饰的病毒蛋白参与调控病毒复制、病毒增殖和病毒粒子装配等一系列病毒的代谢活动,同时也影响宿主细胞内的信号转导,抑制宿主基因组复制和表达。本文就病毒蛋白的磷酸化修饰位点、其生物学功能及磷酸化修饰的分子机制进行综述,为病毒感染性疾病的防控治疗及药物开发提供参考。

**关键词:** 病毒蛋白, 磷酸化修饰, 信号转导, 代谢调节

## Biological function and formation mechanism of phosphorylated viral protein

LI Mang-Mang ZHOU Qian WANG Peng LI Guo-Hui\*

(Institute of Life Science, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China)

**Abstract:** Phosphorylation is one of the most common post-translational modifications of viral proteins, which plays important roles in viral life cycle. The dynamic activities of viral proteins can be regulated by phosphorylation and dephosphorylation, which affect the cellular signal transduction for regulating some metabolism. Additionally, phosphorylation of viral proteins is involved in regulation of a series of viral metabolism, such as DNA replication, viral proliferation, assembly of virion and so on. Meanwhile, the phosphorylation of viral proteins has an effect on cellular signal transduction of hosts to inhibit DNA replication and gene expression of hosts. The phosphorylation sites, biological function and the molecular mechanism of its formation of various viral proteins were summarized in this review, which is helpful for controlling viral spread and development of new drug.

**Keywords:** Viral proteins, Phosphorylation, Signal transduction, Metabolic regulation

病毒蛋白磷酸化是一种可逆的翻译后修饰方式,是由宿主蛋白激酶或病毒自身编码的蛋白激酶在病毒蛋白的一些特异位点上添加磷酸基团。到目前为止,主要在3类氨基酸残基上鉴定到有磷酸化修饰,其中90%的磷酸化修饰发生在丝氨酸残基上,9.9%的磷酸化修饰发生在苏氨酸残基上,仅0.1%的磷酸化修饰发生在酪氨酸残基上<sup>[1]</sup>。病毒感染宿主细胞后,可通过多种方式来诱导或抑制胞内

的信号通路级联反应,病毒蛋白的磷酸化修饰是一种常见的机制,去磷酸化修饰则是通过宿主磷酸酶去除病毒蛋白特异位点上的磷酸基团,通过磷酸化与去磷酸化修饰来调节病毒蛋白的活性、稳定性及其与胞内蛋白的相互作用,调控细胞对外界信号做出相应的应激反应<sup>[2]</sup>,从而利于病毒复制。

如图1所示,细胞信号转导是指细胞外信号分子与受体(膜受体或核受体)结合,引发胞内的一系列

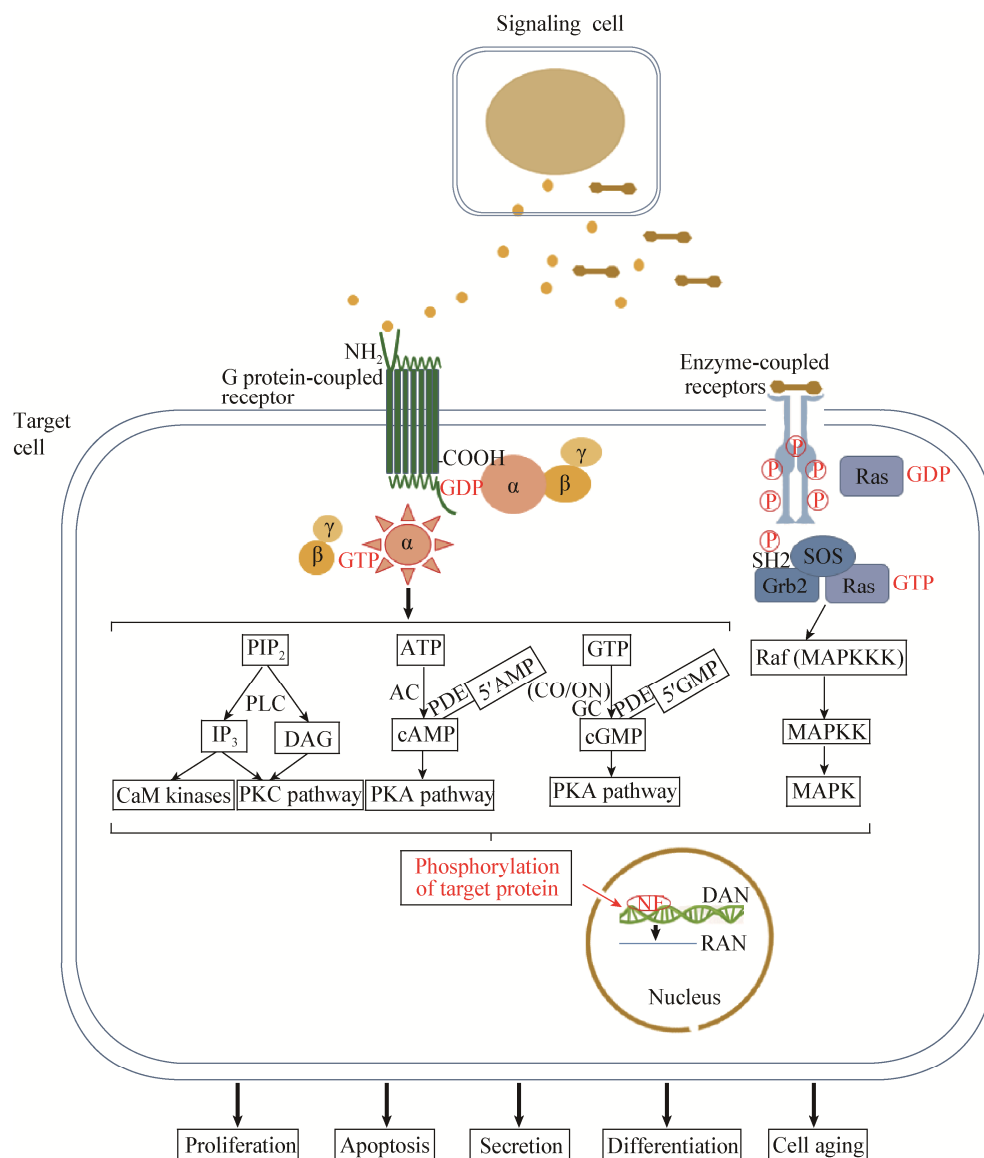


图1 病毒感染宿主细胞后,胞内激酶及病毒激酶磷酸化修饰目的病毒蛋白,改变病毒蛋白生物活性,影响宿主细胞信号通路途径,以促使宿主做出相应反应,如增殖、分化、永生等,从而完成病毒自身各项生理活动

Figure 1 Viral proteins are phosphorylated by cellular and viral kinases after viruses infect host cells, thus the bioactivity of these proteins are changed, and then the signal paths of host cells are affected, resulting in relevant responses by host cells, such as proliferation, differentiation, immortalization and so on, so as to accomplish various viral metabolism

列生物化学反应,直至细胞做出相应反应的过程。胞内存在着多种信号转导方式和途径,各种方式和途径间又有多个层次的交叉调控,网络系统十分复杂。细胞信号转导可调控细胞增殖、分化、凋亡、代谢等反应,从而使机体适应新环境。细胞表面主要有3种受体:G蛋白偶联受体、酶联受体与离子通道受体;胞内受体有2种:胞质受体与核内受体。G蛋白偶联受体所传导的信号通路主要与细胞生长分裂相关。受体酪氨酸激酶(RTK)的主要功能是控制细胞生长、分化,不调控中间代谢。例如,西尼罗病毒(WNV)感染小神经胶质细胞后,胞内伴随着p38MAPK、ERK和JNK磷酸化修饰水平上调,而p38MAPK和ERK的磷酸化和激活可能会诱导趋化因子和细胞因子的产生<sup>[3]</sup>。Epstein-Barr virus (EBV)编码的潜伏膜蛋白1(LMP1)激活PI3K/Akt通路,LMP1的表达可诱导Akt蛋白发生磷酸化修饰,该信号通路与肌动蛋白细胞骨架的重排紧密相关<sup>[4]</sup>。

病毒侵入宿主细胞后,病毒蛋白被宿主蛋白激酶和病毒编码的蛋白激酶共同磷酸化修饰,改变病毒蛋白生物活性,使之与胞内蛋白相互作用,进而利用并篡改宿主的细胞信号通路,迫使宿主细胞做出相应反应,从而利于病毒自身生存增殖。本文总结了部分发生磷酸化修饰的病毒蛋白、磷酸化位点、磷酸化病毒蛋白的生物学功能,磷酸化修饰的分子机制,及对应的宿主激酶和病毒编码激酶,为病毒防治提供了靶标。

## 1 病毒蛋白磷酸化修饰位点

至今还未见病毒蛋白磷酸化修饰分子机制方面的综述。与宿主蛋白磷酸化修饰位点相似,病毒蛋白磷酸化修饰主要发生在丝氨酸残基、苏氨酸残基及酪氨酸残基上。

细小病毒科单链DNA病毒编码一个非结构蛋白1(NS1),NS1蛋白上磷酸化修饰主要发生在丝氨酸/苏氨酸残基上,少部分发生在酪氨酸残基上<sup>[5]</sup>。在双链DNA病毒中,牛痘病毒的病毒粒子中含有11种磷酸化修饰蛋白,包括结构蛋白、膜蛋

白和RNA聚合酶亚基,其中酪氨酸残基占8.5%<sup>[6]</sup>。乙型肝炎病毒(HBV)核心蛋白(C)是磷酸化蛋白,磷酸化修饰位点是其羧基端精氨酸富集区内的第157位、164位和172位丝氨酸残基及羧基末端保守基序RRRS/T内T162、S170和S178<sup>[7]</sup>;在正链RNA病毒中,丙型肝炎病毒(HCV)核心蛋白上磷酸化修饰位点为S53、S116和S99,非结构蛋白NS2上磷酸化修饰位点为S168<sup>[8]</sup>,非结构蛋白NS5B是依赖RNA的RNA聚合酶,被PKC相关激酶2(PKC2)磷酸化修饰,可调节病毒RNA复制,磷酸化修饰位点为S29和S42<sup>[9]</sup>;在负链RNA病毒中,狂犬病病毒(RV)P蛋白的磷酸化修饰位点为S162、S210和S271<sup>[10]</sup>。水泡型口炎病毒(VSV)P蛋白的磷酸化修饰位点为S60、T62、S64、Y14,其中Y14发生磷酸化修饰后可调控病毒基因转录和复制<sup>[11]</sup>;在逆转录病毒中,人免疫缺陷病毒(HIV)Tat蛋白上磷酸化修饰位点为S16和S46<sup>[12]</sup>,结构蛋白Gag上磷酸化修饰位点为S111和S487<sup>[13-14]</sup>,反式激活因子Rev上磷酸化修饰位点为S8和S5<sup>[15]</sup>,由此可见在病毒蛋白中普遍存在磷酸化修饰现象,与调控病毒在宿主细胞内复制、增殖等生理活动密切相关。磷酸化修饰位点的预测方法及鉴定技术日渐成熟,如在线软件NetPhos 2.0和Scansite等<sup>[16]</sup>可预测蛋白磷酸化修饰位点,二级质谱技术可鉴定磷酸化修饰的具体位点。

## 2 磷酸化病毒蛋白的生物学功能

宿主细胞编码的激酶和病毒编码的激酶共同磷酸化修饰病毒蛋白,改变病毒蛋白活性,使病毒蛋白与胞内蛋白相互作用,调控病毒各项生理活动。磷酸化病毒蛋白主要功能有:调控病毒基因组复制与转录,调节靶蛋白活性和亚细胞定位,协助病毒粒子组装及释放,以及影响病毒的感染能力和毒力等。而突变病毒蛋白磷酸化修饰位点,对病毒蛋白进行去磷酸化处理或使用蛋白激酶抑制剂都会使病毒的转录和复制能力全部丧失或部分丧失。

## 2.1 调控病毒基因组复制与转录

蟑螂浓核病毒(PfDNV)是一种单链 DNA 病毒,属于细小病毒科,该病毒编码一个非结构蛋白 NS1,该蛋白具有核酸内切酶、解旋酶和 ATPase 多种活性,这些活性与病毒 DNA 复制密切相关。研究发现: PfDNV NS1 蛋白上的丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基位点上都能发生磷酸化,其中 345 位点酪氨酸磷酸化对该蛋白活性的调控起着至关重要的作用,将该位点突变为苯丙氨酸,或使用磷酸酶处理 NS1 蛋白后,会丧失部分核酸内切酶活性、解旋酶活性及 ATPase 活性,进而影响病毒基因组复制与转录<sup>[5]</sup>;人巨细胞病毒(HCMV)属于疱疹病毒属,病毒进入细胞后使细胞增大。血清诱导的激酶在细胞介导的 IE 蛋白磷酸化修饰中起重要调节作用,MAPK 和细胞外调节激酶 2 (ERK2)磷酸化修饰 IEP86 上多个结构域,将 MAPK 识别基序上丝氨酸或苏氨酸残基(T27、S144、T233/S234 和 T555)突变为丙氨酸残基后,结果显示 T27 和 T233/S234 是血清诱导的激酶和 ERK2 的主要识别位点,S144 位点的磷酸化不需要血清激活,且除 T555 位点,其他位点发生突变导致 IEP86 转录激活活性上升,说明这些位点的磷酸化修饰降低了 IEP86 的转录激活能力<sup>[17]</sup>。此外,蛋白 IE2/IEP86 含有一个丝氨酸富集区(258-275),该区域含有酪蛋白激酶 2 (CKII)识别基序,CKII 磷酸化修饰第 266-269 或 271-275 位丝氨酸会抑制 IE2/IEP86 绑定到 TATA 序列。将 266-275 位的丝氨酸突变为甘氨酸,非磷酸化形式的 IE2/IEP86 突变体增强 HCMV 的启动子活性;突变该区域所有丝氨酸(258-275)或一半丝氨酸(266-275),导致所有病毒蛋白表达延迟;突变 271-275 位丝氨酸加速病毒生长和病毒蛋白表达。说明丝氨酸富集区结构复杂,其磷酸化程度调节病毒基因的瞬时表达<sup>[18]</sup>。人呼吸道合胞病毒(HRSV)属副粘液病毒科,经空气飞沫和密切接触传播,多感染新生儿和 6 个月以内的婴儿。CKII 介导 P 蛋白磷酸化作用于启动子和转录延伸,在病毒转录过程中,去除 P 蛋白或使用磷酸

酶去除 P 蛋白的磷酸基团致使转录延伸终止,只产生不完整的转录起始产物而不是全长起始产物。将 P 蛋白上 232 位磷酸化丝氨酸突变为天冬氨酸后,其转录活性是野生型磷酸化 P 蛋白的一半<sup>[19]</sup>。

## 2.2 影响目的蛋白亚细胞定位

水痘-带状疱疹病毒(VZV)属于双链 DNA 疱疹病毒属,主要感染儿童,初次感染引起水痘,痊愈又复发引起带状疱疹。周期依赖性激酶 CDK1 与 CDK2 磷酸化修饰极早期蛋白 63 (IE63)上 S224,当 IE63 上 S224 和 T222 位点发生磷酸化修饰后,病毒 DNA 聚合酶基因的启动子活性将下调。在病毒感染初期,IE63 主要定位在核内,少量定位在胞质中;在病毒潜伏期阶段,IE63 完全定位在细胞质中。使用活性氧或 CDK1 抑制剂 III (CiIII)处理 VZV 感染的细胞或将 S224 突变为丙氨酸后,发现 IE63 完全定位于细胞核中,表明磷酸化修饰后的 IE63,尤其是磷酸化 S224,对 IE63 的准确定位和活性调控起着重要的作用,推测该蛋白的磷酸化修饰或许与该蛋白的定位有关<sup>[20]</sup>。杆状病毒是双链环状 DNA 病毒,P6.9 基因是一个在杆状病毒感染晚期表达的基因,编码一个类似精蛋白的碱性蛋白,该蛋白在病毒基因组浓缩、病毒粒子包装等过程中起重要作用<sup>[21]</sup>。病毒 P6.9 蛋白的磷酸化和去磷酸化,与该蛋白的定位紧密相关,少部分的 P6.9 蛋白位于病毒发生基质中,而大部分的 P6.9 蛋白分布在内核膜附近,一般认为内核膜附近的 P6.9 蛋白发生了磷酸化修饰,或者将要发生磷酸化修饰,而磷酸化修饰的 P6.9 蛋白可转运到病毒发生基质中的电子致密区域,在这个区域表面,该蛋白接着发生去磷酸化,磷酸化与去磷酸化前后时间不到 1 h,该蛋白去磷酸化后,被认为与调控 P6.9 蛋白和病毒 DNA 间的亲和作用有关,从而有助于核衣壳发生浓缩。磷酸化修饰的 P6.9 蛋白最后出现在包埋型病毒粒子 ODV 中,在 ODV 中至少有 11 种磷酸化修饰程度不同的 P6.9 蛋白;而在芽生型病毒粒子 BV 中,P6.9 蛋白仅以未磷酸化修饰的形式出现<sup>[21]</sup>。

### 2.3 调控病毒粒子组装及释放

严重急性呼吸系统综合征冠状病毒(SARS-CoV)是正链RNA病毒,该病毒编码4个结构蛋白,这些结构蛋白都经过高度磷酸化修饰,并被转运到胞质中的应激颗粒(Sress granules, SG)中以应对外界对细胞的刺激。核衣壳蛋白中富含丝氨酸-精氨酸(SR)区域,被SR蛋白激酶1(SRPK1)磷酸化修饰后,可降低该蛋白多聚化的能力。去除或突变SR基序后,能增加定位至应激颗粒中核衣壳蛋白的数量,而过表达SRPK1会抑制核衣壳蛋白定位至应激颗粒中,由此可见磷酸化修饰可影响结构蛋白的定位,从而影响病毒粒子的组装<sup>[22]</sup>。风疹病毒是正链RNA病毒,病毒粒子中含有3种结构蛋白,一个衣壳蛋白、两个糖蛋白E1和E2,衣壳蛋白能发生磷酸化修饰。在病毒复制期间,衣壳蛋白高度磷酸化,在病毒复制晚期,衣壳蛋白则开始去磷酸化,而在病毒组装过程中,衣壳蛋白则完全去磷酸化,去磷酸化的衣壳蛋白具有与病毒RNA更强的结合能力,促进病毒粒子的组装<sup>[23]</sup>。人免疫缺陷病毒1型(HIV-1)Gag蛋白是病毒粒子的一个主要结构蛋白,该蛋白能介导病毒样颗粒的组装和释放。Gag蛋白S487能被非典型蛋白激酶C(aPKC)磷酸化,该修饰促进GagN端结构域P6与病毒蛋白R(Vpr)相互作用,并将Vpr组装到病毒颗粒中<sup>[13]</sup>。

### 2.4 影响病毒的感染能力和毒力

在负链RNA病毒中,甲型流感病毒(Influenza A)易发生变异,磷酸化修饰聚合酶蛋白PB1及NS1能调节病毒RNA聚合酶活性及病毒复制效率。蛋白PB1-F2由PB1基因可变阅读框编码而成,并被PKC磷酸化修饰,将磷酸化修饰位点S35和T27突变后,影响半胱氨酸天冬氨酸酶活性并降低子代病毒滴度<sup>[24]</sup>。风疹病毒的衣壳蛋白在处于低磷酸化或者去磷酸化修饰状态时,其病毒滴度较低,对细胞毒性也较小<sup>[23]</sup>。单纯疱疹病毒1型(HSV-1)编码的蛋白激酶Us3磷酸化修饰HSV-1 dUTPase(vdUTPase,病毒脱氧尿苷三磷酸化酶),磷酸化位点为S187,将该位点突变为丙氨酸后,极大地降低

了HSV-1在小鼠中央神经系统中的复制能力和毒力水平,表明Us3对HSV-1 dUTPase蛋白的磷酸化与HSV-1毒力水平相关<sup>[25]</sup>。

## 3 磷酸化病毒蛋白的信号通路及分子机制

多种宿主蛋白激酶及病毒编码的激酶都可以对病毒蛋白进行磷酸化修饰,而激酶磷酸化修饰蛋白质涉及到细胞信号通路(图1)。病毒利用宿主细胞信号通路的级联反应将信号向下扩大,促使宿主做出相关反应,如表达特异产物、增殖、衰老、凋亡和永生等,以利于病毒自身生存,从而完成病毒各项生理活动。此外,病毒激酶除了能对病毒蛋白和宿主蛋白进行磷酸化修饰外,还能以自身为催化底物,进行自磷酸化。自磷酸化修饰是通过改变病毒激酶的构象,来正/负调控激酶的催化活性。

Katso等<sup>[26]</sup>研究表明:磷脂酰肌醇3激酶/丝氨酸苏氨酸蛋白激酶(PI3K/Akt)蛋白家族参与细胞增殖、分化、凋亡和葡萄糖转运等多种细胞功能的调节。PI3K/Akt信号通路广泛存在细胞中,在改变细胞活性、促进细胞生长和存活中起重要作用,因此一些病毒对该信号通路进行调控,从而利于病毒自身复制和传播。在双链DNA病毒中,如1型单纯疱疹病毒(HSV-1)编码的两种蛋白激酶:US3和UL13,都可调控PI3K/Akt信号通路,其具体作用途径如下:结构蛋白VP11/12绑定并激活Src家族激酶(SFKs),后招募PI3K,导致Akt磷酸化;而US3通过抑制VP11/12信号活性来负调控Akt,且直接磷酸化修饰Akt的下游底物。US3抑制VP11/12上丝氨酸/苏氨酸和酪氨酸残基磷酸化修饰,从而抑制VP11/12信号分子活性和促进病毒粒子组装,说明病毒激酶介导的蛋白磷酸化修饰事件可协调VP11/12既可作为病毒粒子成分又可作为细胞内信号分子<sup>[27]</sup>。US3蛋白激酶磷酸化修饰HSV-1 dUTPase(vdUTPase,病毒脱氧尿苷三磷酸化酶),通过调节vdUTPase最佳酶活性来启动病毒复制<sup>[25]</sup>。UL13可调控病毒复制,直接磷酸化修饰调节蛋白US3、ICP22、UL41、UL49和VP13/14<sup>[28]</sup>。

US3 和 UL13 都可发生自身磷酸化修饰,其功能有待研究<sup>[29]</sup>。Epstein Barr 病毒(EBV)属于疱疹病毒科,与许多人类肿瘤发生相关,威胁人类健康。EBV 具有嗜 B 淋巴细胞特性,引起细胞潜伏性感染,刺激 B 淋巴细胞转化并能长期传代,感染者将终生携带 EBV。EBV 感染后有潜伏和增殖两种状态,特定状态下(如机体免疫状况下降) EBV 可由潜伏状态转变为增殖状态,使细胞溶解死亡。EBV 编码的蛋白激酶 BGLF4 能抑制干扰素 3 (IRF3)信号通路。在感染 EBV 的 NA 细胞系(感染 EBV 的鼻咽癌细胞系)中,IRF3 信号可被激活,敲除 BGLF4 基因可进一步刺激 IRF3 的应答报告活性。BGLF4 与 IRF3 相互作用,有效抑制 IFN- $\beta$  启动子活性和 IRF3 应答元件。且 BGLF4 抑制内源性 IFN- $\beta$  mRNA 的表达和 STAT1 上 Y701 残基的磷酸化修饰。活化型 IRF3 被招募到含有 IFN- $\beta$  启动子区域的 IRF3 应答元件中,而 BGLF4 降低活化型 IRF3 的数量。病毒激酶抑制宿主先天免疫反应来实现病毒自身复制<sup>[30]</sup>。激酶 BGLF4 对宿主蛋白、病毒转录因子及自身进行磷酸化修饰,在宿主细胞内创造一个利于病毒 DNA 复制的环境,协助核衣壳出核,组装成病毒粒子<sup>[31]</sup>,且在细胞裂解周期中起重要调节作用<sup>[32]</sup>。在 EBV 感染潜伏期内,核抗原 2 (EBNA2)在细胞有丝分裂期被周期依赖性激酶 1 (CDK1)超磷酸化。在裂解期,病毒激酶 BGLF4 超磷酸化修饰 EBNA2 后,可抑制潜伏膜蛋白 1 (LMP1)启动子的反式激活作用,可能诱导 EBV 持续裂解<sup>[33]</sup>。

在正链 RNA 病毒中,丙型肝炎病毒(HCV)编码一个大的多聚蛋白,经细胞和病毒蛋白酶的酶解产生至少 10 个成熟病毒蛋白<sup>[8]</sup>。磷酸化修饰的非结构蛋白 NS5A 能阻断宿主干扰素诱导的抗病毒反应,调节病毒基因组复制,并且能调控宿主细胞信号通路<sup>[34-35]</sup>。此外,NS5A 可抑制信号转导和转录激活因子 1 (STAT1)的磷酸化修饰,从而阻断干扰素信号通路<sup>[36]</sup>。在负链 RNA 病毒中,人类副流感病毒(HPIVs)可引起人反复发作的上呼吸道感染(如感冒和喉咙痛),也可引起严重的反复感染的下呼吸道疾

病(如肺炎、支气管炎等)。HPIV5 P 蛋白与 Polo 样激酶家族(PLK1)相互作用,PLK1 是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶、可调控细胞周期进程。抑制 PLK1 表达上调病毒基因表达,过表达 PLK1 则抑制病毒基因表达,且 PLK1 通过与 P 蛋白第 157 位丝氨酸残基相互作用,直接磷酸化修饰 P 蛋白。突变该位点导致 PLK1 不绑定至 P 蛋白且不磷酸化修饰 P 蛋白,表明 PLK1 通过磷酸化修饰 P 蛋白下调 PIV5 基因表达<sup>[37-38]</sup>。PLK1 C 蛋白是一个多功能的磷酸化修饰蛋白,能抑制病毒复制和阻断宿主干扰素信号通路。突变磷酸化修饰位点会影响病毒复制和宿主干扰素信号转导<sup>[39]</sup>。在体外试验中,人免疫缺陷病毒(HIV)反式作用因子 Rev 被 CKII、MAPK 和 CDK1 磷酸化修饰,其中 CKII 磷酸化修饰 Rev S5 和 S8 两位点,导致 Rev 活性下调<sup>[15]</sup>。Tat 蛋白启动 HIV 基因转录,CDK2 磷酸化修饰 Tat 蛋白上 S16 和 S46。突变 S16 和 S46 导致 Tat 蛋白磷酸化水平下降,基因转录率下降且抑制病毒复制<sup>[12]</sup>。

由此可见,磷酸化修饰的病毒蛋白参与到宿主细胞的信号转导通路中,从而调控病毒的各项生理活动,为病毒防控与治疗及药物研发提供参考。然而病毒蛋白发生自磷酸化修饰对病毒和宿主细胞的影响有待进一步研究,对病毒激酶自磷酸化修饰是否能影响激酶催化活性和招募其他蛋白以相互作用还不清楚,因而有必要进一步研究病毒激酶的自磷酸化如何影响病毒蛋白的活性、结构和功能。

## 4 问题与展望

宿主激酶和病毒激酶共同磷酸化修饰病毒蛋白,影响病毒和宿主细胞各项生理活动,激活或阻断细胞信号通路,促使机体做出相应反应,最终病毒得以生存繁殖或被宿主杀死。许多医学相关的病毒进化成利用相关激酶的活性来启动自身基因组复制,逃避或中和宿主免疫反应。在病毒感染中,宿主激酶和病毒激酶及其下游靶标分子可能成为预防和治疗病毒感染的靶标。如 Abl 家族酪氨酸激酶的抑制剂 Gleevec 能阻断痘病毒膜蛋白 A36R 蛋

白的磷酸化修饰, 进而减少包膜病毒粒子的释放<sup>[40]</sup>, 激酶抑制剂复合物已经成功被用来治疗各种癌症。病毒蛋白磷酸化修饰位点的鉴定对抗病毒药物的发展很有帮助。研究还在继续探讨这些药物在治疗病毒感染过程中的特异性及持久性。然而并不是所有发生磷酸化修饰的病毒蛋白在病毒生理活动中都有显著的调控作用, 因此深入研究宿主细胞中病毒蛋白磷酸化修饰及其相应的调控作用, 能更好地了解病毒感染机制, 进而找到病毒防治的有效靶标。

## 参 考 文 献

- [1] Li GH, Hu CY, Tang Q. Advances in functional mechanism of parvovirus non-structural protein NS1[J]. Science of Sericulture, 2012, 38(5): 919-923 (in Chinese)  
李国辉, 胡朝阳, 唐琦, 等. 细小病毒非结构蛋白 NS1 作用机制的研究进展[J]. 蚕业科学, 2012, 38(5): 919-923
- [2] Keating JA, Striker R. Phosphorylation events during viral infections provide potential therapeutic targets[J]. Reviews in Medical Virology, 2012, 22(3): 166-181
- [3] Cheeran MC, Hu S, Sheng WS, et al. Differential responses of human brain cells to West Nile virus infection[J]. Journal of Neurovirology, 2005, 11(6): 512-524
- [4] Hatton O, Lambert SL, Krams SM, et al. Src kinase and Syk activation initiate PI3K signaling by a chimeric latent membrane protein 1 in Epstein-Barr virus (EBV)+ B cell lymphomas[J]. PLoS One, 2012, 7(8): e42610
- [5] Han Y, Wang Q, Qiu Y, et al. Periplaneta fuliginosa densovirus nonstructural protein NS1 contains an endonuclease activity that is regulated by its phosphorylation[J]. Virology, 2013, 437(1): 1-11
- [6] Matson J, Chou W, Ngo T, et al. Static and dynamic protein phosphorylation in the Vaccinia virion[J]. Virology, 2014(452/453): 310-323
- [7] Jung J, Hwang SG, Chwae YJ, et al. Phosphoacceptors threonine 162 and serines 170 and 178 within the carboxyl-terminal RRRS/T motif of the hepatitis B virus core protein make multiple contributions to hepatitis B virus replication[J]. Journal of Virology, 2014, 88(16): 8754-8767
- [8] Hundt J, Li Z, Liu Q. Post-translational modifications of hepatitis C viral proteins and their biological significance[J]. World Journal of Gastroenterology: WJG, 2013, 19(47): 8929-8939
- [9] Han SH, Kim SJ, Kim EJ, et al. Phosphorylation of hepatitis C virus RNA polymerase Ser29 and Ser42 by PRK2 regulates viral RNA replication[J]. Journal of Virology, 2014, 88(19): 11240-11252
- [10] Gupta AK, Blondel D, Choudhary S, et al. The phosphoprotein of rabies virus is phosphorylated by a unique cellular protein kinase and specific isomers of protein kinase C[J]. Journal of Virology, 2000, 74(1): 91-98
- [11] Mondal A, Victor KG, Pudupakam RS, et al. Newly identified phosphorylation site in the vesicular stomatitis virus P protein is required for viral RNA synthesis[J]. Journal of Virology, 2014, 88(3): 1461-1472
- [12] Ammosova T, Berro R, Jerebtsova M, et al. Phosphorylation of HIV-1 Tat by CDK2 in HIV-1 transcription[J]. Retrovirology, 2006, 3: 78
- [13] Kudoh A, Takahama S, Sawasaki T, et al. The phosphorylation of HIV-1 Gag by atypical protein kinase C facilitates viral infectivity by promoting Vpr incorporation into virions[J]. Retrovirology, 2014, 11: 9
- [14] Burnette B, Yu G, Felsted RL. Phosphorylation of HIV-1 gag proteins by protein kinase C[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1993, 268(12): 8698-8703
- [15] Meggio F, D'Agostino DM, Ciminale V, et al. Phosphorylation of HIV-1 Rev protein: implication of protein kinase CK2 and pro-directed kinases[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1996, 226(2): 547-554
- [16] Que S, Wang Y, Chen P, et al. Evaluation of protein phosphorylation site predictors[J]. Protein and Peptide Letters, 2010, 17(1): 64-69
- [17] Harel NY, Alwine JC. Phosphorylation of the human cytomegalovirus 86-kilodalton immediate-early protein IE2[J]. Journal of Virology, 1998, 72(7): 5481-5492
- [18] Barrasa MI, Harel NY, Alwine JC. The phosphorylation status of the serine-rich region of the human cytomegalovirus 86-kilodalton major immediate-early protein IE2/IEP86 affects temporal viral gene expression[J]. Journal of Virology, 2005, 79(3): 1428-1437
- [19] Dupuy LC, Dobson S, Bitko V, et al. Casein kinase 2-mediated phosphorylation of respiratory syncytial virus phosphoprotein P is essential for the transcription elongation activity of the viral polymerase; phosphorylation by casein kinase 1 occurs mainly at Ser(215) and is without effect[J]. Journal of Virology, 1999, 73(10): 8384-8392
- [20] Habran L, Bontems S, Di Valentin E, et al. Varicella-zoster virus IE63 protein phosphorylation by roscovitine-sensitive cyclin-dependent kinases modulates its cellular localization and activity[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2005, 280(32): 29135-29143
- [21] Liu X, Zhao H, Fang Z, et al. Distribution and phosphorylation of the basic protein P6.9 of Autographa californica nucleopolyhedrovirus[J]. Journal of Virology, 2012, 86(22): 12217-12227
- [22] Peng TY, Lee KR, Tarn WY. Phosphorylation of the arginine/serine dipeptide-rich motif of the severe acute respiratory syndrome coronavirus nucleocapsid protein modulates its multimerization, translation inhibitory activity and cellular localization[J]. The FEBS Journal, 2008, 275(16): 4152-4163
- [23] Law LM, Everitt JC, Beatch MD, et al. Phosphorylation of rubella virus capsid regulates its RNA binding activity and virus replication[J]. Journal of Virology, 2003, 77(3): 1764-1771
- [24] Mitzner D, Dudek SE, Studtrucker N, et al. Phosphorylation of the influenza A virus protein PB1-F2 by PKC is crucial for apoptosis promoting functions in monocytes[J]. Cellular

- Microbiology, 2009, 11(10): 1502-1516
- [25] Kato A, Shindo K, Maruzuru Y, et al. Phosphorylation of a herpes simplex virus 1 dUTPase by a viral protein kinase Us3 dictates viral pathogenicity in the central nervous system but not at the periphery[J]. *Journal of Virology*, 2014, 88(5): 2775-2785
- [26] Katso R, Okkenhaug K, Ahmadi K, et al. Cellular function of phosphoinositide 3-kinases: implications for development, homeostasis, and cancer[J]. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2001, 17: 615-675
- [27] Eaton HE, Saffran HA, Wu FW, et al. Herpes simplex virus protein kinases US3 and UL13 modulate VP11/12 phosphorylation, virion packaging, and phosphatidylinositol 3-kinase/akt signaling activity[J]. *Journal of Virology*, 2014, 88(13): 7379-7388
- [28] Asai R, Ohno T, Kato A, et al. Identification of proteins directly phosphorylated by UL13 protein kinase from herpes simplex virus 1[J]. *Microbes and Infection/Institut Pasteur*, 2007, 9(12/13): 1434-1438
- [29] Jacob T, van den Broeke C, Favoreel HW. Viral serine/threonine protein kinases[J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(3): 1158-1173
- [30] Wang JT, Doong SL, Teng SC, et al. Epstein-Barr virus BGLF4 kinase suppresses the interferon regulatory factor 3 signaling pathway[J]. *Journal of Virology*, 2009, 83(4): 1856-1869
- [31] Chang CW, Lee CP, Huang YH, et al. Epstein-Barr virus protein kinase BGLF4 targets the nucleus through interaction with nucleoporins[J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(15): 8072-8085
- [32] Chang LS, Wang JT, Doong SL, et al. Epstein-Barr virus BGLF4 kinase downregulates NF-kappaB transactivation through phosphorylation of coactivator UXT[J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(22): 12176-12186
- [33] Yue W, Gershburg E, Pagano JS. Hyperphosphorylation of EBNA2 by Epstein-Barr virus protein kinase suppresses transactivation of the LMP1 promoter[J]. *Journal of Virology*, 2005, 79(9): 5880-5885
- [34] Huang Y, Staschke K, De Francesco R, et al. Phosphorylation of hepatitis C virus NS5A nonstructural protein: a new paradigm for phosphorylation-dependent viral RNA replication?[J]. *Virology*, 2007, 364(1): 1-9
- [35] Ross-Thriepland D, Harris M. Insights into the complexity and functionality of hepatitis C virus NS5A phosphorylation[J]. *Journal of Virology*, 2014, 88(3): 1421-1432
- [36] Kumthip K, Chusri P, Jilg N, et al. Hepatitis C virus NS5A disrupts STAT1 phosphorylation and suppresses type I interferon signaling[J]. *Journal of Virology*, 2012, 86(16): 8581-8591
- [37] Sun D, Luthra P, Li Z, et al. PLK1 down-regulates parainfluenza virus 5 gene expression[J]. *PLoS Pathogens*, 2009, 5(7): e1000525
- [38] Fuentes SM, Sun D, Schmitt AP, et al. Phosphorylation of paramyxovirus phosphoprotein and its role in viral gene expression[J]. *Future Microbiology*, 2010, 5(1): 9-13
- [39] Wells G, Addington-Hall M, Malur AG. Mutations within the human parainfluenza virus type 3 (HPIV 3) C protein affect viral replication and host interferon induction[J]. *Virus Research*, 2012, 167(2): 385-390
- [40] Newsome TP, Weisswange I, Frischknecht F, et al. Abl collaborates with Src family kinases to stimulate actin-based motility of vaccinia virus[J]. *Cellular Microbiology*, 2006, 8(2): 233-241