

小 RNA 病毒 3A 基因及其编码蛋白研究进展

张盛勇,程安春,汪铭书

摘要:小 RNA 病毒 3A 蛋白是病毒的非结构蛋白,本文主要介绍 3A 基因以及其编码蛋白的特点,3A 蛋白对细胞蛋白转运中的作用以及与其他蛋白的相互作用,3A 蛋白与 ARF 家族在囊泡运输中作用的机制等。

关键词:小 RNA 病毒;3A 基因;3A 蛋白

中图分类号:R374

文献标识码:A

文章编号:1002-2694(2016)02-0177-05

Research progress in 3a gene of picornaviridae and its encoded protein

ZHANG Sheng-yong,CHENG An-chun,WANG Ming-shu

(Avian Diseases Research Center, College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University /

Key Laboratory of Animal Diseases and Human Health of Sichuan Province /

Institute of Preventive Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: Picornaviridae protein 3A is a non-structural protein of the virus. This article mainly introduced the characteristics of 3A gene and its encoding protein, the role of cell protein transport and interaction with other proteins. ARF family protein and 3A protein in the vesicles transportation synthetically discusses the interaction mechanism and so on.

Keywords: picornaviridae; 3A gene; 3A protein

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 3147223) and the National Technological Support Projects of China (No. 2015BAD12B05)

Corresponding authors: Wang Ming-shu, Email: mshwang@163.com

小 RNA 病毒科家族庞大,由 29 个属 50 个种组成 (<http://www.ictvonline.org/>)。根据小 RNA 病毒翻译起始所必需的内部核糖体进入位点 (Internal Ribosome Entry Site, IRES) 元件的二级结构和生物学特征可以将其划分为 5 个不同的型。I 型主要包括肠道病毒属 (Enterovirus), 以脊髓灰质炎病毒 (Poliovirus, PV) 为典型; II 型包括口蹄疫病毒属 (Aphthovirus) 和心病毒属 (Cardiovirus) 等, 以口蹄疫病毒 (Foot and Mouth Disease Virus, FMDV) 和脑心肌炎病毒 (Encephalomyocarditisvirus, EMCV) 为典型; III 型以肝病毒属 (Hepadnavirus) 的甲型肝炎病毒 (Hepatitis A virus, HAV) 为代表; IV 型包括禽肝病毒属 (Avihepatovirus) 等, 以鸭肝炎

病毒 (Duck Hepatitis Virus, DHV) 为代表; 近年被发现的 4 型主要包括嵴病毒属 (Kobuvirus) 等中的成员^[1-2]。小 RNA 病毒颗粒无囊膜, 直径约为 30 nm, 呈 20 面体对称, 外表光滑呈球形。病毒基因组没有帽子结构, 其 RNA 编码一个多聚前蛋白, 其后再由病毒自身所编码的蛋白酶加工, 使之成为成熟的蛋白。起初的切割将多聚蛋白分为 3 个区域, P1 区、P2 区和 P3 区。其中位于 P1 区的蛋白 VP0 (VP2 和 VP4)、VP1 和 VP3 为结构蛋白, P2 区裂解为 2A、2B、2C 蛋白, P3 区裂解为 3A、3B、3C 和 3D 蛋白, P2 和 P3 都为非结构蛋白, 参与病毒的各项生命活动。其中 3A 蛋白是膜结合蛋白, 主要起到锚定复制复合体、抑制宿主蛋白的分泌以及调节膜蛋白递呈等作用, 在病毒的复制中起到了相当重要的作用。本文就 3A 基因及其编码蛋白的特点和相关功能进行综述, 以便对小 RNA 病毒病原的进一步研究工作打下基础。

国家自然科学基金 (No. 3147223)、国家科技支撑计划 (No. 2015BAD12B05) 和国家现代农业 (水禽) 产业技术体系 (CARS-43-8) 联合资助
通讯作者: 汪铭书, Email: mshwang@163.com

作者单位: 1. 四川农业大学动物医学院禽病防治研究中心, 四川农业大学动物疫病与人类健康四川省重点实验室, 成都 611130

1 3A 基因序列及其编码蛋白特征

1.1 3A 基因序列特征 小 RNA 病毒基因组由单一正链 RNA 组成, 大小约 7.0 kb~8.5 kb。其中包括 5' 端非编码区(Untranslate Region, 5' UTR) 和 3' 端非编码区(3' UTR), 基因组 5' UTR 长 600 nt~1 300 nt, 连接有一个病毒小蛋白 VPg, 3' UTR 长约为 45 nt~345 nt, 基因 3' 端非编码区具有 poly A 尾结构, 在这两者之间是病毒的仅有的开放阅读框(Open Read Frame, ORF)。当病毒 ORF 在宿主细胞中表达出其多聚前蛋白后, 被病毒自身所编码的蛋白酶切割成为成熟的蛋白。在多聚蛋白近 N 段 1/3 处编码病毒的结构蛋白(P1), 组装成病毒的衣壳。剩下 2/3 的部分则编码病毒的非结构蛋白(P2, P3), 主要参与对病毒复制所需的相关蛋白、宿主防御系统和宿主核糖体复合体等结构和功能进行调节, 使病毒核酸在宿主细胞内得到完整的复制和翻译。3A 基因位于 P3 区, 由于病毒的不同其基因序列上也存在一定的差异, 如 PV 3A 基因含有 261 核苷酸, 能够编码 87 氨基酸; 鸭肝炎病毒(Duck Hepatitis Virus, DHV)含有 279 核苷酸, 编码 93 氨基酸; 口蹄疫病毒 3A 蛋白的 C 末端比其他的小 RNA 病毒都要长, 总共含有 459 核苷酸, 可以编码 153 氨基酸的蛋白^[3-5]。同样是在口蹄疫病毒中, 在 97 年台湾的分离株上也发现 C 端附近有 10 个氨基酸缺失的毒株, 并且之后的对其 C 端附近的氨基酸缺失的重组病毒的体外实验中, 都能连续稳定培养 10 代以上^[6-8]。说明了小 RNA 病毒的 3A 基因序列在大小上是较为保守的, 部分的差异体现在 C 端的长度差异, 但这些差异对病毒的影响并不大。

1.2 3A 基因编码蛋白的特征 小 RNA 病毒 3A 蛋白是其前体 3AB 蛋白的切割产物, 3A 和 3B 通常是以二聚体的状态存在^[9]。在 3A 蛋白 C 端都具有一段很强的疏水区, 并且这个疏水区域是相当保守的。张广宇等人在对 FMDV 毒株的研究发现, 有 6 个 α 融合蛋白在蛋白前段形成了亲水性强的内部疏水结构, 而蛋白的后段则主要是由无规卷曲形成的疏水区^[10]。González-Magaldi 等人的研究也表明了, 3A 编码区的前半部分也是比较保守的亲水区域^[11]。在 PV 的研究中进一步确定到了, 3A 蛋白在其 C 端有 22 个残基组成的疏水结构域^[3, 12]。3A 蛋白的这种同时具有部分强疏水区和部分亲水区的结构, 使得其蛋白具有跨膜的功能, 对其在病毒生命过程中的定位起到了决定性作用。

2 3A 蛋白的功能

2.1 蛋白质转运抑制功能 部分小 RNA 病毒的 3A 蛋白具有抑制蛋白质在高尔基体和内质网之间的双向转运功能, 其中包括干扰素 IFN-β、白细胞介素 IL-6、白细胞介素 IL-8、主要组织相容性复合体 MHC-I、肿瘤坏死因子 TNF 受体等宿主防御相关的分子^[13-15]。例如在肠道病毒的免疫逃逸机制中, 3A 蛋白对内质网向高尔基体的蛋白转运过程的抑制起着重要作用^[16-17]。同样在对柯萨奇病毒 B3(Coxsachievirus B3, CVB3) 3A 蛋白的研究中也发现了其抑制蛋白从内质网到高尔基体的运输^[17-18]。

该机制下蛋白转运被抑制的根本原因是内质网到高尔基体的双向运输被阻断, 而此双向运输功能是取决于外被蛋白 I(Coat Protein I, COP I) 和外被蛋白 II(coat protein II, COP II) 的外包复合物的成功形成。COP I 募集到膜上是被 GTP 酶(Protein-synthesizing GTPases) 作用的 ADP 核糖基化因子 1(ADP-Ribosylation Factor 1, ARF1) 严格控制的^[12, 19]。因此 ARF-GDP 和 ARF-GTP 的正确调控是 COP I 被募集到膜上的根本保证, 也是双向运输的基础。3A 蛋白在细胞膜上能够通过与高尔基体特异的 BFA 抗性因 1(Golgi-specific brefeldin A resistance factor 1, GBF1) 的结合来阻断 ARF1 的活化。结果导致 COP I 不能被募集到膜上使得蛋白质运输被抑制^[20]。ElsWessels 发现只有肠道病毒的 3A 蛋白能够抑制 COP I 募集到膜上, 而在人鼻病毒、脑心肌炎病毒、口蹄疫病和甲型肝炎病毒的 3A 蛋白都不能抑制蛋白的转运。与肠道病毒最为相似的轮状病毒, 本身不具备蛋白转运抑制功能, 但当其 N 端被 CVB3 3A 蛋白 N 端所取代后, 使得重组病毒获得了对 GBF1 的结合能力, 能阻断 ARF1 的活化, 从而使得其具有蛋白转运抑制能力。然而在之后的研究中又发现 71 型肠道病毒的 3A 蛋白无法抑制蛋白转运^[13]。该 71 型肠道病毒 3A 蛋白的第 7 位氨基酸有个非极性的脯氨酸, 然而其他的肠病毒的第 7 位都是带负电的氨基酸。由此认为 71 型肠道病毒 3A 蛋白不具备抑制蛋白转运功能的主要原因有可能是该位点上氨基酸的改变所引起的, 而其他的小 RNA 病毒在此位点上的氨基酸变化也有可能就是该抑制蛋白运输功能丧失的原因, 而对于该位点的确认还需要进一步的研究。

2.2 作为 3D 聚合酶的锚定功能 研究表明 3A 蛋白在膜相关复合体的表面与 GBF1/ARF1 和 ACBD3 结合并形成复合体后, 吸引细胞中的磷脂酰肌醇 4-激酶 IIIβ(Phosphatidylinositol 4-Kinase

Class III Beta, PI4KIII β)募集到这个复合体上,催化膜磷脂分子转化为磷脂酰肌醇四磷酸(PI4P)^[18,21-22]。随后使得 3D 也被募集到被催化的膜上结合,并使得 3D 聚合酶活性的表现,进而开始病毒 RNA 的复制过程^[23-25]。Jeffrey J. DeStefano 等人的研究表明,3AB 能够促进 3D 聚合酶的合成,并且不会改变 3D 聚合酶的保真性^[26]。在对 PV 的研究中发现,3AB 蛋白可以直接结合到 3CD 前体蛋白上,然后能够激活 3CD 蛋白的蛋白酶活性。所以认为 3AB 蛋白能在 RNA 复制复合物中作为 3D 聚合酶的锚定^[27]。而 3AB 蛋白与膜结合部位主要为 3A 的强疏水区,因此认为 3A 蛋白在 RNA 复制复合体的形成过程中,能将 3D 锚定到复制复合体上,并激活其聚合酶活性。

2.3 3A 蛋白对病毒复制的影响 非结构蛋白的功能往往与病毒整个生命周期都有着重要的关联。作为小 RNA 病毒非结构蛋白之一的 3A 蛋白,其在病毒复制中起着非常重要的作用。有大量研究表明 3A 蛋白几个碱基的突变会导致病毒 RNA 复制的受阻,可见 3A 蛋白是病毒 RNA 复制的关键。其强疏水区使得其可直接作用于膜系统,成功的与膜结合是病毒 RNA 复制复合体形成的基础^[28]。这使得其在病毒 RNA 复制的准备阶段中发挥着重要作用。在 PV 3A 蛋白和 3CD 蛋白中,George A 等人使用海拉细胞提取的体外培养系统中发现 3A 蛋白能与 GBF1/ARF 蛋白作用募集 PI4K β 到膜上形成复制复合体的功能^[29]。大量的实验也表明 3A 蛋白还能与高尔基蛋白 ACBD3 相互作用来募集 PI4K β 到复制位点,该两种不同的途径是相互独立的^[21,30-32]。无论是通过何种途径 3A 蛋白在小 RNA 病毒复制过程中都起到了相当关键的作用。

3 3A 蛋白与其他蛋白的作用

3.1 3A 与 3B 的共同作用 小 RNA 病毒 3A 蛋白能将复制复合体锚定到其改造好的膜上,功能活性与 3B 蛋白有着密切的联系。3A 蛋白和 3B 蛋白的前体 3AB 蛋白是一个多功能蛋白。在体外实验中发现 3AB 蛋白能以辅助因子的身份来激活 3D 聚合酶^[28]。大量研究表明 3AB 蛋白具还有双螺旋去稳定功能。3AB 的螺旋去稳定性是没有特异性的,可以作用于 DNA 双链、RNA 双链以及 RNA 和 DNA 的杂交双链,并且该活性不存在方向性。能使 RNA 链不稳定,促进 RNA 链的退火,这表明 3AB 蛋白具有核酸分子伴侣活性^[33]。而单独的 3A 和 3B 都不具备激活 3D 聚合酶活性和核酸伴侣活性。对肠

道病毒的研究中进一步将其活性位点定位到了 3A 蛋白 C 末端的 7 个氨基酸和 3B 蛋白所组成的 3B+7 蛋白,该 3B+7 蛋白有着几乎与 3AB 蛋白相同的核酸分子伴侣活性。由此说明 3A 与 3B 蛋白的共同作用对于其核酸伴侣活性是必须的。由于小 RNA 病毒 3A 蛋白 C 端的差别较大,是否其核酸分子伴侣活性位点都集中于 3B+7 还需进一步验证,但可以肯定的是该活性的正常发挥是需要 3A 和 3B 蛋白共同作用的。

3.2 3A 蛋白与 GBF1/ARF 相互作用 小 RNA 病毒 3A 蛋白所引起的蛋白运输抑制的主要原因是细胞的囊泡运输受到了阻碍。囊泡运输受多种因子调控,大量研究证明 3A 蛋白主要影响的是囊泡运输中 ARF 家族蛋白的重排^[34]。ARF 空间结构相对保守,ARF 的构象上能够在有活性的 ARF-GTP 和无活性 ARF-GDP 转换^[35-36]。当 ARF 结合 GTP 后其 N 末端的 α 融合可以插入到内质网膜内, GTP-ARF 与内质网膜结合后激活外被蛋白装配途径^[37]。接下来外被蛋白的结合到内质网并与 GTP-ARF 相间形成被膜小窝。然后在受体膜上 ARF 活化磷脂酶 D(PLD),导致了囊泡与靶膜的特异性融合,在与靶膜的融合中囊泡 ARF-GTP 复合物和外被蛋白会被洗脱下来。但 ARF 并没有 GTP 酶的活性,只有当 ARF 同靶膜上的 GTP 酶活化蛋白(GTPase-Activating Proteins, GAPs)作用才能使 ARF-GTP 转化为 ARF-GDP,从而完成整个循环。因此 ARF 家族蛋白不同构象的成功转换是细胞正常蛋白转运的基础。3A 蛋白通过对 GBF1 的募集,使得 ARF 一直处于有活性的 ARF-GTP 状态,而非活性状态的 ARF-GDP 无法产生,使得囊泡无法与内质网结合。3A 蛋白与 GBF1/ARF 相互作用,最终使得宿主蛋白的转运被抑制。

4 展望

小 RNA 病毒侵入宿主后能将宿主的膜改造,然后在被改造后的膜上复制其自身 RNA,并将其积聚在被感染细胞的细胞质里。在整个过程中 3A 蛋白是通过何种机制调节来实现通过 GBF1 抑制 ARF 家族蛋白的活化来抑制蛋白的运输,同时又通过募集 GBF1 到膜上形成复制复合体完成自身的复制,这都是不明确的。但是两者都很清晰地反应了,3A 蛋白在病毒复制的整个过程中起重要的作用。也有人提出这些膜的改造是由于病毒 2BC 蛋白与 3A 蛋白共同作用使得分泌途径变化,然而具体的机制尚未被阐明。细胞中具有很多 microRNAs 以及其他

的宿主蛋白,其中是否存在能影响小RNA病毒3A蛋白功能发挥的因素还不清楚,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Belsham GJ. Divergent picornavirus IRES elements[J]. *Virus Res.*, 2009, 139(2): 183-192. DOI: 10.1016/j.virusres.2008.07.001
- [2] Asnani M, Kumar P, Hellen CUT. Widespread distribution and structural diversity of Type IV IRESSs in members of Picornaviridae[J]. *Virology*, 2015, 478: 61-74. DOI: 10.1016/j.virol.2015.02.016
- [3] Teterina NL, Pinto Y, Weaver JD, et al. Analysis of poliovirus protein 3A interactions with viral and cellular proteins in infected cells[J]. *J Virol*, 2011, 85(9): 4284-4296. DOI: 10.1128/JVI.02398-10
- [4] Shi S, Chen H, Chen Z, et al. Complete genome sequence of a duck hepatitis A virus 1 isolated from a pigeon in China[J]. *Genome Announcem.*, 2013, 1(4): e00451-00413. DOI: 10.1128/genomeA.00451-13
- [5] Gladue D, O'donnell V, Baker-bransetter R, et al. Interaction of foot-and-mouth disease virus nonstructural protein 3A with host protein DCTN3 is important for viral virulence in cattle[J]. *J Virol*, 2014, 88(5): 2737-2747. DOI: 10.1128/JVI.03059-13
- [6] Dunn C, Donaldson A. Natural adaption to pigs of a Taiwanese isolate of foot-and-mouth disease virus[J]. *Vet Rec*, 1997, 141(7): 174-175. DOI: 10.1136/vr.141.7.174
- [7] Ma X, Li P, Sun P, et al. Construction and characterization of 3A-epitope-tagged foot-and-mouth disease virus[J]. *Infect Genet Evolut J Mol Epidemiol Evolut Genet Infect Dis*, 2015, 31c: 17-24. DOI: 10.1016/j.meegid.2015.01.003
- [8] Ma X, Li P, Bai X, et al. Sequences outside that of residues 93-102 of 3A protein can contribute to the ability of foot-and-mouth disease virus (FMDV) to replicate in bovine-derived cells[J]. *Virus Res.*, 2014, 191: 161-171. DOI: 10.1016/j.virusres.2014.07.037
- [9] Gao Q, Yuan S, Zhang C, et al. Discovery of itraconazole with broad-spectrum in vitro antienterovirus activity that targets non-structural protein 3A[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(2): 2254-2265. DOI: 10.1128/AAC.05108-14
- [10] Zhang GY. Structure prediction and function analysis of FMDV 3A[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2007. (in Chinese)
- 张广宇. 口蹄疫病毒3A蛋白结构预测及功能分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2007.
- [11] Gonzalez-magaldi M, Martin-acebes MA, Kremer L, et al. Membrane topology and cellular dynamics of foot-and-mouth disease virus 3A protein [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (10): e106685. DOI: 10.1371/journal.pone.0106685
- [12] Jackson WT. Poliovirus-induced changes in cellular membranes throughout infection[J]. *Curr Opin Virol*, 2014, 9: 67-73. DOI: 10.1016/j.coviro.2014.09.007
- [13] Choe SS, Dodd DA, Kirkegaard K. Inhibition of cellular protein secretion by picornaviral 3A proteins[J]. *Virology*, 2005, 337(1): 18-29. DOI: 10.1016/j.virol.2005.03.036
- [14] Deitz S, Dodd D, Cooper S, et al. MHC I-dependent antigen presentation is inhibited by poliovirus protein 3A[J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2000, 97(25): 13790-13795. DOI: 10.1073/pnas.250483097
- [15] Dodd D, Giddings T, Kirkegaard K. Poliovirus 3A protein limits interleukin-6 (IL-6), IL-8, and beta interferon secretion during viral infection[J]. *J Virol*, 2001, 75(17): 8158-8165. DOI: 10.1128/JVI.75.17.8158-8165.2001
- [16] Neznanov N, Kondratova A, Chumakov KM, et al. Poliovirus protein 3A inhibits tumor necrosis factor (TNF)-induced apoptosis by eliminating the TNF receptor from the cell surface[J]. *J Virol*, 2001, 75(21): 10409-10420. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2008.04.016
- [17] Wessels E, Duijsings D, Niu TK, et al. A viral protein that blocks ARF1-mediated COP-I assembly by inhibiting the guanine nucleotide exchange factor GBF1[J]. *Developmental Cell*, 2006, 11(2): 191-201. DOI: 10.1016/j.devcel.2006.06.005
- [18] Dorobantu C, Van Der Schaar H, Ford L, et al. Recruitment of PI4KIII β to coxsackievirus B3 replication organelles is independent of ACBD3, GBF1, and ARF1[J]. *J Virol*, 2014, 88(5): 2725-2736. DOI: 10.1128/JVI.03650-13
- [19] Belov G, Van Kuppeveld F. (+)RNA viruses rewire cellular pathways to build replication organelles[J]. *Curr Opin Virol*, 2012, 2(6): 740-747. DOI: 10.1016/j.co-viro.2012.09.006
- [20] Wessels E, Duijsings D, Lanke KH, et al. Effects of picornavirus 3A proteins on protein transport and GBF1-dependent COP-I recruitment[J]. *J Virol*, 2006, 80(23): 11852-11860. DOI: 10.1128/JVI.01225-06
- [21] Teoule F, Brisac C, Pelletier I, et al. The Golgi protein ACBD3, an interactor for poliovirus protein 3A, modulates poliovirus replication[J]. *J Virol*, 2013, 87(20): 11031-11046. DOI: 10.1128/JVI.00304-13
- [22] Arita M. Phosphatidylinositol-4 kinase III beta and oxysterol-binding protein accumulate unesterified cholesterol on poliovirus-induced membrane structure[J]. *Microbiol Immunol*, 2014, 58(4): 239-256. DOI: 10.1111/1348-0421.12144
- [23] Greninger A, Knudsen G, Betegon M, et al. The 3A protein from multiple picornaviruses utilizes the Golgi adaptor protein ACBD3 to recruit PI4KIII β [J]. *J Virol*, 2012, 86(7): 3605-3616. DOI: 10.1128/JVI.06778-11
- [24] Sasaki J, Ishikawa K, Arita M, et al. ACBD3-mediated recruitment of PI4KB to picornavirus RNA replication sites[J]. *EMBO J*, 2012, 31(3): 754-766. DOI: 10.1038/embj.2011.429
- [25] Hsu NY, Illytska O, Belov G, et al. Viral reorganization of the secretory pathway generates distinct organelles for RNA replication[J]. *Cell*, 2010, 141(5): 799-811. DOI: 10.1016/j.cell.2010.03.050
- [26] DeStefano JJ. Effect of reaction conditions and 3AB on the mutation rate of poliovirus RNA-dependent RNA polymerase in an alpha-complementation assay[J]. *Virus Res.*, 2010, 147(1): 53-59. DOI: 10.1016/j.virusres.2009.10.006
- [27] Gangaramani DR, Eden EL, Shah M, et al. The twenty-nine a-

- mino acid C-terminal cytoplasmic domain of poliovirus 3AB is critical for nucleic acid chaperone activity[J]. *RNA Biol*, 2010, 7(6): 820-829. DOI: 10.4161/rb.7.6.13781
- [28] Fujita K, Krishnakumar S, Franco D, et al. Membrane topography of the hydrophobic anchor sequence of poliovirus 3A and 3AB proteins and the functional effect of 3A/3AB membrane association upon RNA replication[J]. *Biochemistry*, 2007, 46(17): 5185-5199. DOI: 10.1021/bi06024758
- [29] Belov G, Fogg M, Ehrenfeld E. Poliovirus proteins induce membrane association of GTPase ADP-ribosylation factor[J]. *J Virol*, 2005, 79(11): 7207-7216. DOI: 10.1128/JVI.79.11.7207-7216.2005
- [30] Dorobantu C, Ford-Siltz L, Sittig SP, et al. GBF1-and ACBD3-independent recruitment of PI4KIII β to replication sites by rhinovirus 3A proteins[J]. *J Virol*, 2015, 89(3): 1913-1918. DOI: 10.1128/JVI.02830-14
- [31] Sasaki J, Ishikawa K, Arita M, et al. ACBD3-mediated recruitment of PI4KB to picornavirus RNA replication sites[J]. *EMBO J*, 2011, 31(3): 754-766. DOI: 10.1038/embj.2011.429
- [32] Zhi H, Yang X, Yang G, et al. Hepatitis C virus NS5A competes with PI4KB for binding to ACBD3 in a genotype-depend-
- ent manner[J]. *Antiviral Res*, 2014, 107: 50-55. DOI: 10.1016/j.antiviral.2014.04.012
- [33] Destefano J, Titilope O. Poliovirus protein 3AB displays nucleic acid chaperone and helix-destabilizing activities[J]. *J Virol*, 2006, 80(4): 1662-1671. DOI: 10.1128/JVI.80.4.1662-1671.2006
- [34] D'souza-Schorey C, Chavrier P. ARF proteins: roles in membrane traffic and beyond[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(5): 347-358. DOI: 10.1038/nrm1910
- [35] Pasqualato S, Menetrey J, Franco M, et al. The structural GDP/GTP cycle of human ARF6[J]. *EMBO Reports*, 2001, 2(3): 234-238. DOI: 10.1093/embo-reports/kve043
- [36] Wright J, Kahn R, Sztul E. Regulating the large Sec7 ARF guanine nucleotide exchange factors: the when, where and how of activation[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2014, 71(18): 3419-3438. DOI: 10.1007/s00018-014-1602-7
- [37] Khan A, Menetrey J. Structural biology of ARF and RabGTPases' effector recruitment and specificity[J]. *Structure*, 2013, 21(8): 1284-1297. DOI: 10.1016/j.str.2013.06.016

收稿日期:2015-09-21;修回日期:2015-11-26

(上接第 168 页)

- [4] Bergman A, Heimer D, Kondori N, et al. Fast and specific dermatophyte detection by automated DNA extraction and real-time PCR[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2013, 19(4): 205-211. DOI: 10.1111/1469-0969.1.12153
- [5] Han HW, Hsu MM, Choi JS, et al. Rapid detection of dermatophytes and *Candida albicans* in onychomycosis specimens by an oligonucleotide array[J]. *BMC Infect Dis*, 2014, 14: 581. DOI: 10.1186/s12879-014-0581-5
- [6] Robert R, Pihet M. Conventional methods for the diagnosis of dermatophytosis[J]. *Mycopathologia*, 2008, 166: 295-306.
- [7] Paugam A, Lollivier C, Viguerie C, et al. Comparison of real-time PCR with conventional methods to detect dermatophytes in samples from patients with suspected dermatophytosis[J]. *J Microbiol Methods*, 2013, 95(2): 218-222.
- [8] Summerbell RC. Epidemiology and ecology of onychomycosis [J]. *Dermatology(Basel)*, 1997, 194: 32-36.
- [9] Bergmans AM, van der Ent M, Klaassen A, et al. Evaluation of a single-tube real-time PCR for detection and identification of 11 dermatophyte species in clinical material[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2010, 16(6): 704-710.
- [10] Frealle E, Rodrigue M, Gantois N. Phylogenetic analysis of *Trichophyton mentagrophytes* human and animal isolates based on MnSOD and ITS sequence comparison[J]. *Microbiology*,
- 2007, 153: 3466-3477.
- [11] Brilliowska-Dabrowska A, Saunte DM, Cavling Arendrup M. Five-hour diagnosis of dermatophyte nail infections with specific detection of *Trichophyton rubrum*[J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45: 1200-1204.
- [12] Wisselink GJ, van Zanten E, Kooistra-Smid AMD. Trapped in keratin: a comparison of dermatophyte detection in nail, skin and hair samples directly from clinical samples using culture and real-time PCR[J]. *J Microbiol Methods*, 2011, 85: 62-66.
- [13] Kim JY, Choe YB, Ahn KJ, et al. Identification of dermatophytes using multiplex polymerase chain reaction[J]. *Ann Dermatol*, 2011, 23: 304-312.
- [14] Verrier J, Krahenbuhl L, Bontems O, et al. Dermatophyte identification in skin and hair samples using a simple and reliable nested-PCR assay[J]. *Br J Dermatol*, 2012, 168: 295-301.
- [15] Li HC, Bouchara JP, Hsu MML, et al. Identification of dermatophytes by an oligonucleotide array[J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45: 3160-3166.
- [16] Beifuss B, Bezold G, Gottlob P, et al. Direct detection of five common dermatophyte species in clinical samples using a rapid and sensitive 24-h PCR-ELISA technique open to protocol transfer[J]. *Mycoses*, 2011, 54: 137-145.

收稿日期:2015-06-10;修回日期:2015-10-12