

DOI:10.16781/j.0258-879x.2018.03.0263

· 论 著 ·

## 多配体聚糖结合蛋白 1 过表达增加低密度丙型肝炎病毒颗粒的产生

邓力宾<sup>1,2</sup>, 郭中旭<sup>2</sup>, 马鹏娟<sup>2</sup>, 王刚<sup>1</sup>, 龙钢<sup>2\*</sup>

1. 上海大学生命科学学院, 上海 201900

2. 中国科学院上海巴斯德研究所, 上海 200031

**[摘要]** **目的** 探讨多配体聚糖结合蛋白 1 (syntenin-1) 对丙型肝炎病毒 (HCV) 颗粒组装的影响。**方法** 采用免疫印迹法分析人原代肝细胞中 syntenin-1 的含量。使用慢病毒质粒转染人肝癌细胞系 Huh7.5.1 构建 syntenin-1 过表达细胞系和绿色荧光蛋白 (GFP) 过表达细胞系。采用电转染法将 HCV RNA 转入 Huh7.5.1 细胞、syntenin-1 过表达细胞和 GFP 过表达细胞后, 用荧光素酶分析、免疫印迹分析和病毒滴度测定方法分别从 RNA 复制、病毒蛋白表达和感染性病毒颗粒的分泌方面研究 syntenin-1 过表达对 HCV 的影响。用密度梯度分析法检测 HCV RNA 和感染滴度在不同密度组分的分布情况。**结果** 3 例不同人原代肝细胞中 syntenin-1 的含量均较 Huh7.5.1 细胞高 ( $P < 0.01$ )。Syntenin-1 过表达不影响 HCV RNA 在宿主细胞中的复制; syntenin-1 过表达细胞来源 HCV 病毒的感染性与 Huh7.5.1 细胞或 GFP 过表达细胞相比差异均无统计学意义。在 syntenin-1 过表达细胞培养上清液中, HCV 感染性颗粒从主要集中在 1.08~1.16 g/mL 区域逐渐转变为有部分转移到密度为 1.01~1.02 g/mL 的低密度区域。**结论** Syntenin-1 过表达改变了 HCV 感染性颗粒的密度组分分布。

**[关键词]** 丙型肝炎病毒; 多配体蛋白聚糖结合蛋白; 密度组分分布; 病毒颗粒

**[中图分类号]** R 373.2<sup>+1</sup> **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2018)03-0263-06

### Overexpression of syntenin-1 enhances production of low-density hepatitis C virus particles

DENG Li-bin<sup>1,2</sup>, GUO Jin-xu<sup>2</sup>, MA Peng-juan<sup>2</sup>, WANG Gang<sup>1</sup>, LONG Gang<sup>2\*</sup>

1. College of Life Science, Shanghai University, Shanghai 201900, China

2. Institute Pasteur of Shanghai, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of syntenin-1 on the assembly of hepatitis C virus (HCV) particles. **Methods** The content of syntenin-1 in human primary hepatocytes was detected by Western blotting analysis. Human hepatocellular carcinoma cell line Huh7.5.1 was transfected with lentiviral plasmids to construct syntenin-1 overexpressed cell line and green fluorescent protein (GFP) overexpressed cell line. After transferring HCV RNA into Huh7.5.1 cells, syntenin-1 overexpressed cells and GFP overexpressed cells by electroporation, the effects of syntenin-1 overexpression on HCV in the cells were investigated in terms of RNA replication, viral protein contents and secretion of infectious virus particles by luciferase analysis, Western blotting and virus titer, respectively. The density of viral particles was assessed by isopycnic ultracentrifugation to analyze the distributions of HCV RNA and infective titer. **Results** The contents of syntenin-1 in three human primary hepatocytes were higher than that in the Huh7.5.1 cells ( $P < 0.01$ ). Syntenin-1 overexpression had no effect on HCV RNA replication in host cells; the infectivity of HCV derived from syntenin-1 overexpressed cells was not significantly different compared with the Huh7.5.1 cells or GFP overexpressed cells. In syntenin-1 overexpressed cell culture supernatants, some infectious HCV particles mainly concentrated in the region of concentration of 1.08-1.16 g/mL gradually transferred to the low-density region of 1.01-1.02 g/mL. **Conclusion** Syntenin-1 overexpression alters the distribution of density components of infectious HCV particles.

**[Key words]** hepatitis C virus; syntenin; density component distribution; virion

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2018, 39(3): 263-268]

**[收稿日期]** 2017-10-24 **[接受日期]** 2017-12-25

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(2015CB554301). Supported by National Key Development Program of Basic Research(2015CB554301).

**[作者简介]** 邓力宾, 硕士生. E-mail: lbdeng@ips.ac.cn

\*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-54923161, E-mail: glong@ips.ac.cn

根据世界卫生组织 2017 年 10 月的实况报道,全球约有 7 000 万人感染丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV)<sup>[1]</sup>, HCV 感染已经成为一个世界性的公共卫生问题。多数 HCV 感染患者进展为慢性肝炎,部分患者甚至发展为肝纤维化、肝硬化和肝癌等<sup>[2]</sup>。HCV 属于黄病毒科 (*Flaviviridae*) HCV 属 (*Hepacivirus*), 是一种具有包膜结构的单股正链 RNA 病毒<sup>[3]</sup>, 其编码区编码一种包含大约 3 000 个氨基酸的多聚蛋白, 经蛋白酶切割后产生结构蛋白 core、E1、E2、p7 和非结构蛋白 NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A、NS5B<sup>[4]</sup>。

多配体聚糖结合蛋白 1 (syntenin-1) 是一种包含突触后密度蛋白 (postsynaptic density protein, disc large and zonula occludens, PDZ) 结构域、可与多种分子相互作用的衔接蛋白<sup>[5]</sup>, 其参与了细胞内蛋白转运、细胞黏附、信号转导和肿瘤细胞转移等过程<sup>[6]</sup>。研究表明, syntenin-1 参与调节人乳头瘤病毒和人免疫缺陷病毒的感染过程<sup>[7-8]</sup>。

Lussignol 等<sup>[9]</sup>从 2 种不同的亲和纯化方法纯化得到的 HCV 病毒颗粒中检测到包括 syntenin-1 在内的 46 种宿主细胞来源蛋白质, 并发现通过 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 技术敲低 *syntenin-1* 表达不影响 HCV 在细胞内的复制以及释放到细胞外的病毒 RNA 量。因此, syntenin-1 在病毒组装中所起的作用仍需要进一步研究。本研究旨在探讨 syntenin-1 对 HCV 颗粒组装的影响。

## 1 材料和方法

1.1 细胞培养与试剂 人肝癌细胞系 Huh7.5.1 由美国斯克利普斯研究所 Francis Chisari 教授惠赠, 人胚肾癌细胞系 HEK 293T 细胞由中国科学院上海巴斯德研究所钱志康研究员惠赠, 人原代肝细胞免疫印迹蛋白样品 (煮沸处理过的样品) 由吉林大学白求恩第一医院惠赠, pWPI-syntenin-1-BLR、pWPI-GFP-BLR、pFK-Jc1-E2<sup>Flag</sup>、psPAX2 和 pMD2.5 质粒由德国海德堡大学 Ralf Bartenschlager 教授惠赠。以上细胞均培养在含有 10% 胎牛血清、1% 青霉素-链霉素、2 mmol/L 非必需氨基酸的 DMEM 培养液中。 $\beta$ -Actin 羊多抗 (sc-1616)、syntenin-1 鼠单抗 (sc-100336) 均购自美国 Santa-Cruz Biotechnology 公司。Tubulin 鼠

单抗 (66031-1-Ig)、syntenin-1 兔多抗 (22399-1-AP) 和 flag 鼠单抗 (M200081) 均购自美国 Proteintech 公司。NS5A 兔多抗、core 兔多抗和 T7 聚合酶由本实验室自制。DMEM 培养液购自美国 Invitrogen 公司, 胎牛血清购自美国 Gibco 公司。蛋白质印迹分析 ECL 显色底物购自美国 Bio-Rad 公司。载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE) ELISA 检测试剂盒购自江苏科特生物科技有限公司。

1.2 过表达细胞系的构建 将 pWPI-syntenin-1-BLR 或 pWPI-GFP-BLR 分别与 psPAX2 和 pMD2.5 包装质粒一起转染进 HEK 293T 细胞中, 制备慢病毒并转导进入 Huh7.5.1 细胞中, 加杀稻瘟菌素 (blasticidin, BLR) 筛选得到 *syntenin-1* 过表达细胞或绿色荧光蛋白 (GFP) 过表达细胞。

1.3 HCV RNA 电转染 取培养至 90% 融合度的细胞, 胰酶消化后用新鲜 DMEM 培养液吹打成单细胞悬液并计数。取  $5 \times 10^6$  个细胞,  $300 \times g$  离心 5 min 后用 PBS 重悬后再次离心。用 cytomix 缓冲液 (96% cytomix + 2% ATP + 2% 谷胱甘肽) 重悬细胞, 加入 HCV RNA 混匀后转移到 4 mm 电转杯中。在 975  $\mu$ F、270 V 条件下进行电脉冲。将电脉冲后的细胞转移到含有 10% 胎牛血清、1% 青霉素-链霉素、2 mmol/L 非必需氨基酸的 DMEM 培养液中并于恒温培养箱中培养, 培养 72 h 后用蛋白质印迹法检测病毒蛋白以确定电转成功并进行后续实验。

1.4 蛋白质印迹法 样品用蛋白上样缓冲液裂解, 90  $^{\circ}$ C 恒温金属浴中放置 40 min。用 12% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离蛋白样品, 之后用半干转法将蛋白转移至聚偏二氟乙烯膜上, 用 5% 脱脂奶粉溶液封闭 1.5 h。加入一抗  $\beta$ -actin 羊多抗 (1 : 1 000)、syntenin-1 鼠单抗 (1 : 1 000)、Tubulin 鼠单抗 (1 : 10 000)、syntenin-1 兔多抗 (1 : 1 000)、flag 鼠单抗 (1 : 1 000)、NS5A 兔多抗 (1 : 5 000)、core 兔多抗 (1 : 5 000), 室温孵育 1.5 h 后用 PBST 洗膜 4 次, 每次 15 min, 加入二抗室温孵育 1.5 h。用 PBST 洗膜 4 次, 使用蛋白质印迹分析显色底物显影。用 ImageJ 1.41 灰度分析软件计算灰度值。

1.5 病毒滴度测定 在 96 孔板中每孔铺  $1 \times 10^4$  个

Huh 7.5.1 细胞, 每孔体积为 100  $\mu\text{L}$ , 24 h 后在 96 孔板第 1 行每孔中加入 20  $\mu\text{L}$  病毒液, 之后每行按 1 : 6 的稀释比例依次加入相应病毒稀释液, 每个浓度设 6 个复孔, 37  $^{\circ}\text{C}$  培养 72 h。取出 96 孔板加入 50  $\mu\text{L}$  甲醇后 -20  $^{\circ}\text{C}$  放置至少 15 min。弃甲醇, 加入 NS5A 鼠单抗 (1 : 2 000) 室温孵育 1 h。用 PBS 洗 3 次, 加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠二抗 (1 : 500) 室温孵育 1 h。PBS 洗 3 次, 加入 50  $\mu\text{L}$  显色液, 光学显微镜下观察是否有红色圈状的 HCV 病毒灶。病毒滴度用半数组织培养感染量 (50% tissue culture infective dose, TCID<sub>50</sub>) 计量。

1.6 荧光素酶分析 JcR2a- $\Delta\text{E1E2}$  是一种带有 Renilla 荧光素酶的 HCV 亚基因组复制子 RNA, 可以在细胞内复制但不能组装成病毒颗粒, 复制产生的 RNA 都会停留在细胞内。用该 RNA 电转染进 Huh 7.5.1 细胞和 *GFP*、*syntenin-1* 过表达细胞系。将带有荧光素酶基因的 JcR2a- $\Delta\text{E1E2}$  电转染进入靶细胞中, 然后将细胞铺入 24 孔板, 置于 37  $^{\circ}\text{C}$  培养箱中。收样品时, 用 PBS 洗细胞 1 次, 然后加入 100  $\mu\text{L}$ /孔被动裂解缓冲液 (PLB) 裂解细胞, 放置于水平摇床上摇动 15 min。取每孔中的细胞裂解上清液 25  $\mu\text{L}$  转移至孔底及侧壁均不透光的 96 孔板中, 转移后每孔立刻加入 12.5  $\mu\text{L}$  的荧光素酶试验缓冲液 II (LAR II), 混匀, 再每孔加入 12.5  $\mu\text{L}$  的停止与激发试剂 (Stop & Glo Reagent), 混匀, 测定 Renilla 荧光素酶的活性。

1.7 密度梯度 收集 50 mL 病毒液, 用浓缩管 (Centrifugal Filters Ultracel<sup>®</sup>-100K) 4  $^{\circ}\text{C}$ 、1 500  $\times g$  离心 30 min, 浓缩至约 500  $\mu\text{L}$ 。用 PBS 和 OptiPrep 配制 0%、20%、40%、60% 和 80% 组分混合液。取 200  $\mu\text{L}$  浓缩病毒液与 100% OptiPrep 混合加入到超速离心管底部, 按照密度从高到低的顺序依次加入不同浓度的密度组分混合液各 800  $\mu\text{L}$ 。4  $^{\circ}\text{C}$  110 000  $\times g$  离心 16 h。从上往下分出连续密度组分, 每个组分 300  $\mu\text{L}$ 。

1.8 qPCR 检测 HCV RNA 含量 利用 TRIzol 试剂提取各个密度组分的总 RNA, 使用天根生化科技 (北京) 有限公司的 RNA 反转录试剂盒反转录为 cDNA, 进行 qPCR。HCV RNA 引物为: 正向 5'-TCT GCG GAA CCG GTG AGT A-3', 反向 5'-TCA GGC AGT ACC ACA AGG C-3'。qPCR 反应

条件为: 95  $^{\circ}\text{C}$  15 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  60 s, 循环 40 次。将不同浓度的 RNA 标准品得到的 CT 值制作成标准曲线计算各个样品的 RNA 含量。

1.9 ApoE ELISA 定量测定 往预先包被 ApoE 捕获抗体的包被微孔中分别加入不同浓度的标准品和待测样品各 50  $\mu\text{L}$ 。除空白对照孔外, 每孔加入辣根过氧化物酶标记的检测抗体 100  $\mu\text{L}$ , 用封板膜封住反应孔, 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温箱温育 60 min。弃上清液, 每孔加 350  $\mu\text{L}$  洗涤液, 静置 1 min, 弃洗涤液, 如此重复洗板 5 次。每孔加入底物 A、B 各 50  $\mu\text{L}$ , 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温箱避光孵育 15 min 后, 加入终止液 50  $\mu\text{L}$ , 15 min 内在 450 nm 波长处测定各孔光密度 ( $D$ ) 值。将不同浓度的标准品得到的  $D$  值制作成标准曲线计算各个样品的 ApoE 含量。

1.10 统计学处理 采用 GraphPad Prism 7.0 或 Office 2016 Excel 软件行统计学分析和图表绘制。所有实验均重复 3 次, 实验数据表示为  $\bar{x} \pm s$ , 两组间比较采用两样本均数比较的  $t$  检验。检验水准 ( $\alpha$ ) 为 0.05。

## 2 结果

2.1 Syntenin-1 蛋白在人肝癌细胞系 Huh7.5.1 和人原代肝细胞中的含量对比 由图 1 可见, 3 例不同人原代肝细胞样品中 syntenin-1 蛋白的表达水平平均高于 Huh7.5.1 细胞, 分别是 Huh7.5.1 细胞的 3.00、2.89 和 1.83 倍。

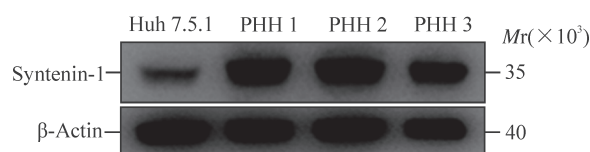


图 1 Syntenin-1 蛋白在 Huh7.5.1 细胞和人原代肝细胞中的表达

Fig 1 Expression of syntenin-1 in Huh7.5.1 cell and primary human hepatocyte (PHH)

Huh7.5.1: Human hepatoma cell line

2.2 Syntenin-1 过表达细胞系的构建 蛋白质印迹结果 (图 2) 显示, 转导 *syntenin-1* 的 Huh7.5.1 细胞中 syntenin-1 的表达高于亲本 Huh7.5.1 细胞和转导 *GFP* 的 Huh7.5.1 细胞 ( $P < 0.01$ ), 表明 *syntenin-1* 过表达细胞系构建成功。

2.3 Syntenin-1 过表达、*GFP* 过表达与 Huh7.5.1 细胞的病毒学比较 Renilla 荧光素酶分析结果

(图 3A) 表明, HCV RNA 在 3 种细胞内的复制水平差异无统计学意义。将 Jc1-E2<sup>Flag</sup> RNA 电转染入这 3 种细胞 72 h 后行病毒滴度 (图 3B) 和蛋白

质免疫印迹 (图 3C~3E) 分析, 结果显示, 3 种细胞产生的 HCV 的总体感染性和细胞内病毒相关蛋白表达差异无统计学意义。

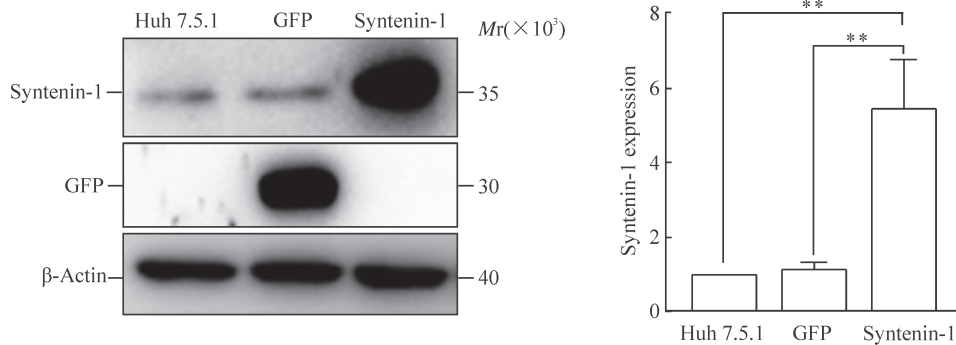


图 2 *Syntenin-1* 过表达细胞系的构建

Fig 2 Establishment of *syntenin-1* overexpressed cell line

Expressions of *syntenin-1* in Huh 7.5.1, *syntenin-1* overexpressed and *GFP* overexpressed cells. Huh7.5.1: Human hepatoma cell line; *GFP*: Green fluorescent protein. \*\* $P < 0.01$ .  $n = 3, \bar{x} \pm s$

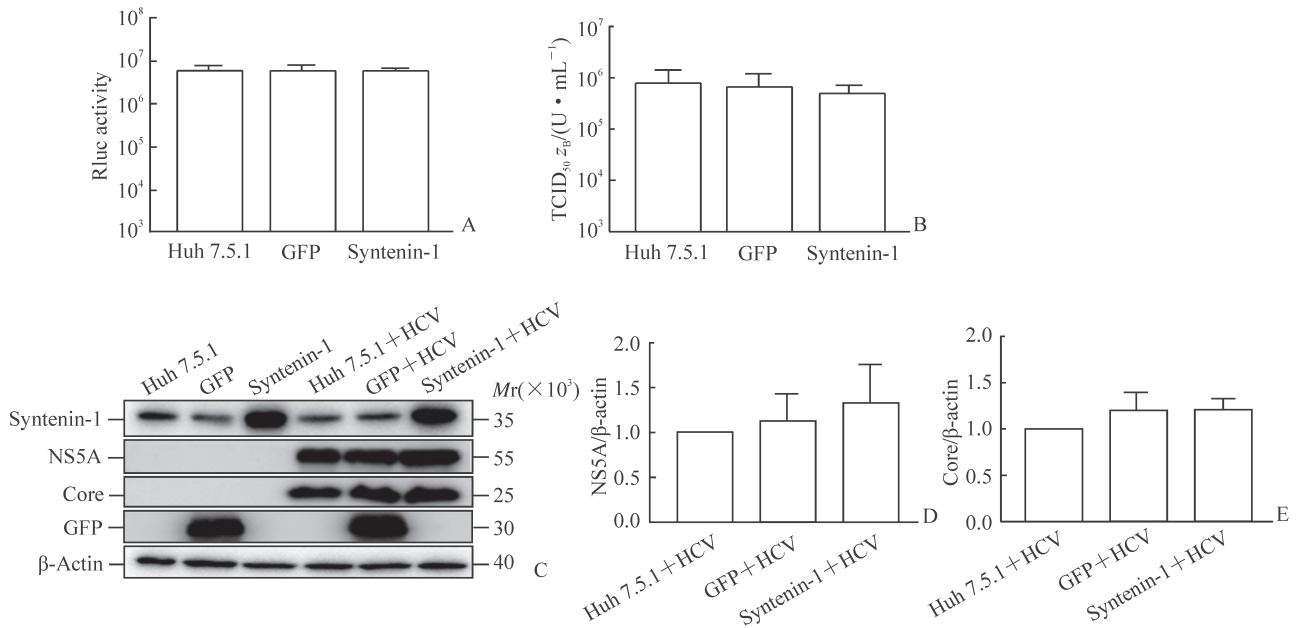


图 3 Huh7.5.1、*syntenin-1* 过表达和 *GFP* 过表达细胞中 HCV 病毒复制、组装和蛋白表达的比较

Fig 3 Comparisons of HCV replication, virus production, and viral protein expression in Huh7.5.1, *syntenin-1* overexpressed and *GFP* overexpressed cells

A: Huh7.5.1, *GFP* overexpressed and *syntenin-1* overexpressed cells were electroporated with JcR2a-ΔE1E2 RNA, and luciferase activity was determined at 72 h after electroporation; B: Huh7.5.1, *GFP* overexpressed and *syntenin-1* overexpressed cells were electroporated with Jc1-E2<sup>Flag</sup>, and the infectivity of HCV was measured by the TCID<sub>50</sub> test at different time points after electroporation; C-E: HCV viral protein expressions in Huh7.5.1, *GFP* overexpressed and *syntenin-1* overexpressed cells were detected by Western blotting. Huh7.5.1: Human hepatoma cell line; *GFP*: Green fluorescent protein; HCV: Hepatitis C virus; TCID<sub>50</sub>: 50% tissue culture infective dose.  $n = 3, \bar{x} \pm s$

2.4 *Syntenin-1* 过表达改变了 HCV 感染性颗粒的密度组分分布 qPCR 结果 (图 4A、4B) 显示, *syntenin-1* 和 *GFP* 过表达细胞产生的病毒颗粒 RNA 主峰都在 1.11 g/mL 附近。在病毒感染能

力方面, *syntenin-1* 过表达后 HCV 感染性颗粒从主要集中在 1.08~1.16 g/mL 区域逐渐转变为有部分转移到密度为 1.01~1.02 g/mL 的低密度区域 (图 4C); 由百分比表示的感染能力比较图 (图 4D)



可见, *syntenin-1* 过表达细胞产生的病毒在 1.11 g/mL 感染能力较 *GFP* 过表达细胞低, 其最高峰在 1.08 g/mL 处。由单位 RNA 感染能力 (specific infectivity) 结果 (图 4E) 可见, *syntenin-1* 过表达细胞产生的病毒在 1.01 g/mL 处的单位 RNA 感染能力最高。

采用 ApoE ELISA 试剂盒检测各组分的 ApoE 含量发现, *syntenin-1* 过表达组中 1.01 g/mL 这一密度组分 ApoE 含量约为对照组 1.4 倍, 而在 1.11g/mL 这一密度层 ApoE 含量约为对照组的 50%。见图 4F。

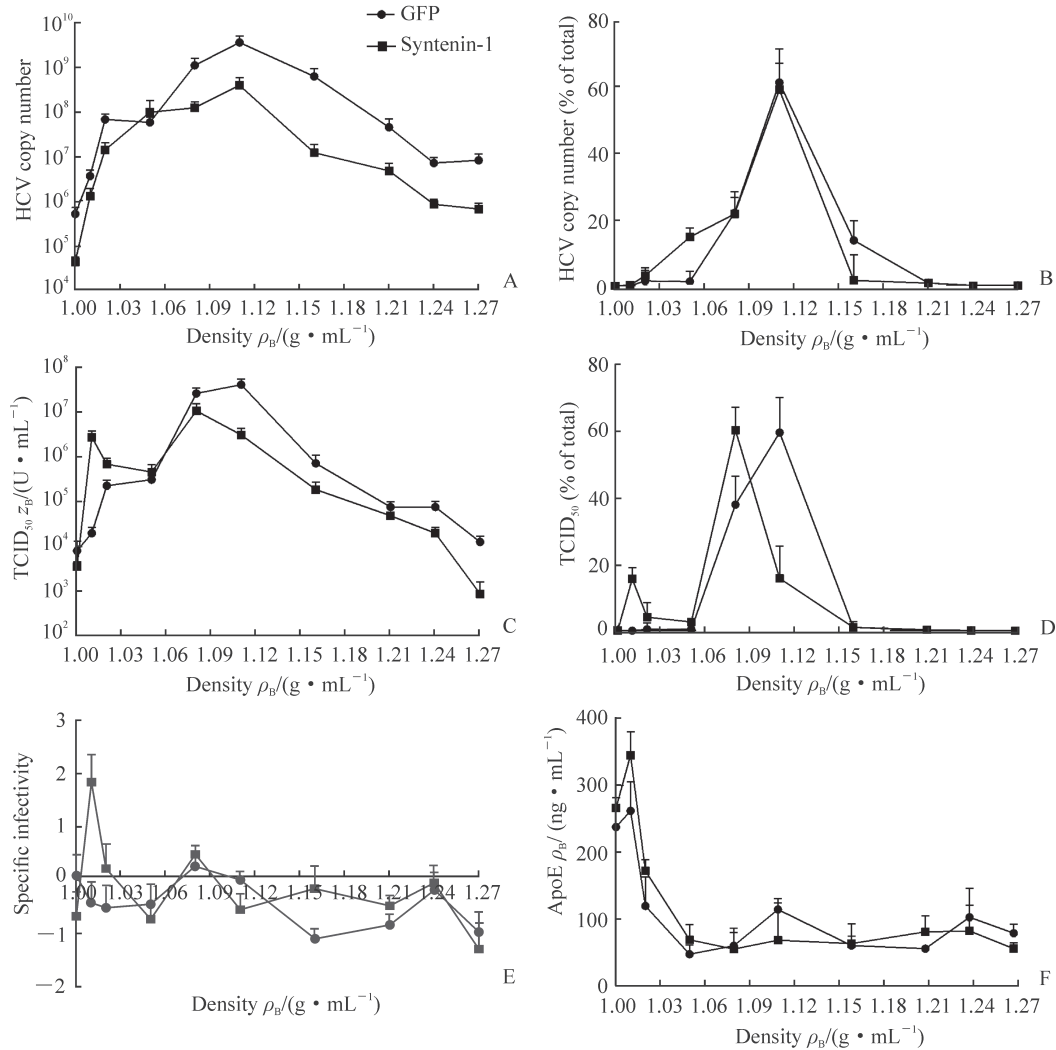


图 4 *Syntenin-1* 过表达增加了低密度高感染性病毒颗粒的产生

Fig 4 *Syntenin-1* overexpression in Huh7.5.1 cells increases production of HCV particles with high specific infectivity and low density

A-D: Culture supernatants were subjected to isopycnic OptiPrep gradient ultracentrifugation, and fractions were probed for viral load (A, B) and viral infectivity (C, D); E, F: Specific infectivity (ratio of infectivity titre to viral load, E) and ApoE (by ELISA, F). GFP: Green fluorescent protein; HCV: Hepatitis C virus; TCID $_{50}$ : 50% tissue culture infective dose; ApoE: Apolipoprotein E.  $n=3, \bar{x} \pm s$

### 3 讨论

本实验发现人原代肝细胞中 *syntenin-1* 的含量高于 Huh7.5.1 细胞系, 在 HCV 的宿主细胞中过表达 *syntenin-1* 能够改变 HCV 感染性颗粒的密度组分分布。已有研究表明, HCV 感染性病毒颗

粒的感染能力与颗粒的浮力密度呈负相关<sup>[10]</sup>。因此本实验通过密度梯度离心分离实验对 *syntenin-1* 和 *GFP* 过表达细胞产生的病毒上清进行检测。*Syntenin-1* 过表达细胞培养上清液中的 HCV 感染性病毒颗粒从主要集中在 1.08~1.16 g/mL 区域变为有部分转移到 1.01~1.02 g/mL 的低密度区域。

这些 *syntenin-1* 含量较高的细胞生产的低密度感染性病毒颗粒拥有更高的感染能力,并且带有更多的脂类,与人肝癌细胞 Huh7.5.1 产生的 HCV 有组成上的差异,这可能会为体外实验探索中和抗体和疫苗的设计等提供参考。

本实验在 *syntenin-1* 过表达细胞系中证实了 *syntenin-1* 并不影响 HCV 感染性病毒颗粒在宿主中的复制和释放。与 *GFP* 过表达细胞系相比,上清液总体感染能力没有明显差异,但 *GFP* 过表达细胞的感染能力呈单峰分布,主要集中在 1.08~1.16 g/mL 区域,而 *syntenin-1* 过表达细胞则是双峰(1.08~1.16 g/mL 和 1.01~1.02 g/mL 的密度组分各有 1 个峰)。*Syntenin-1* 过表达细胞在 1.08~1.16 g/mL 这部分病毒分布集中的密度组分中 HCV RNA 含量和感染能力指标 TCID<sub>50</sub> 均较 *GFP* 过表达细胞减少,并且在 1.16~1.27 g/mL 密度组分病毒感染能力也下降。这些变化都是 *syntenin-1* 过表达细胞产生了物理化学性质发生改变的低密度的脂病毒颗粒,但 2 种细胞病毒液的总体感染能力未见明显差异。

极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)是病毒脂质颗粒的重要组成部分,覆盖在病毒颗粒以外,与病毒感染密切相关<sup>[11]</sup>。其中 ApoE 是 VLDL 的蛋白成分,同时也是感染性病毒颗粒的重要组成部分<sup>[12]</sup>。Beilstein 等<sup>[13]</sup>实验表明,Huh7.5.1 细胞或人原代肝细胞中胆碱酰基转移酶 1 下调后产生的 HCV 病毒颗粒数量增加,在低密度层(约 1.03 g/mL)出现高感染能力的病毒颗粒;且他们通过检测 ApoE 和 ApoB 的含量发现低密度层 VLDL 含量增加,表明这种低密度高感染能力的病毒颗粒与脂类代谢和脂滴的重组有关。本实验发现,通过过表达 *syntenin-1* 得到了相似的表型,并且在低密度层里有更多的 ApoE 出现在 *syntenin-1* 过表达细胞中,但导致低密度高感染能力的病毒颗粒出现的原因是否也与脂类代谢和脂滴的重组相关仍需进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] World Health Organization. Global hepatitis report, 2017 [R/OL]. (2017-10) [2017-10-17]. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/zh/>.
- [2] GOOSSENS N, HOSHIDA Y. Hepatitis C virus-induced hepatocellular carcinoma[J]. Clin Mol Hepatol, 2015, 21:

105-114.

- [3] WAKITA T, PIETSCHMANN T, KATO T, DATE T, MIYAMOTO M, ZHAO Z, et al. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome[J]. Nat Med, 2005, 11: 791-796.
- [4] BARTENSCHLAGER R, PENIN F, LOHMANN V, ANDRÉ P. Assembly of infectious hepatitis C virus particles[J]. Trends Microbiol, 2011, 19: 95-103.
- [5] GROOTJANS J J, ZIMMERMANN P, REEKMANS G, SMETS A, DEGEEST G, DÜRR J, et al. Syntenin, a PDZ protein that binds syndecan cytoplasmic domains[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94: 13683-13688.
- [6] SARKAR D, BOUKERCHE H, SU Z Z, FISHER P B. *Mda-9/syntenin*: recent insights into a novel cell signaling and metastasis-associated gene[J]. Pharmacol Ther, 2004, 104: 101-115.
- [7] LAZIĆ D, HUFBAUER M, ZIGRINO P, BUCHHOLZ S, KAZEM S, FELTKAMP M C, et al. Human papillomavirus type 8 E6 oncoprotein inhibits transcription of the PDZ protein syntenin-2[J]. J Virol, 2012, 86: 7943-7952.
- [8] GORDÓN-ALONSO M, ROCHA-PERUGINI V, ÁLVAREZ S, MORENO-GONZALO O, URSA A, LÓPEZ-MARTÍN S, et al. The PDZ-adaptor protein syntenin-1 regulates HIV-1 entry[J]. Mol Biol Cell, 2012, 23: 2253-2263.
- [9] LUSSIGNOL M, KOPP M, MOLLOY K, VIZCAY-BARRENA G, FLECK R A, DORNER M, et al. Proteomics of HCV virions reveals an essential role for the nucleoporin Nup98 in virus morphogenesis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113: 2484-2489.
- [10] PODEVIN P, CARPENTIER A, PÈNE V, AOUDJEHANE L, CARRIÈRE M, ZAÏDI S, et al. Production of infectious hepatitis C virus in primary cultures of human adult hepatocytes[J]. Gastroenterology, 2010, 139: 1355-1364.
- [11] ANDRÉ P, KOMURIAN-PRADEL F, DEFORGES S, PERRET M, BERLAND J L, SODOYER M, et al. Characterization of Low- and very-low-density hepatitis C virus RNA-containing particles[J]. J Virol, 2002, 76: 6919-6928.
- [12] CATANESE M T, URYU K, KOPP M, EDWARDS T J, ANDRUS L, RICE W J, et al. Ultrastructural analysis of hepatitis C virus particles[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110: 9505-9510.
- [13] BEILSTEIN F, LEMASSON M, PÈNE V, RAINTEAU D, DEMIGNOT S, ROSENBERG A R. Lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 is downregulated by hepatitis C virus: impact on production of lipo-viro-particles[J]. Gut, 2016, 66: 2160-2169.

[本文编辑] 杨亚红