

天然免疫抗病毒效应分子 Mx 蛋白的结构与功能研究进展

孙业平¹⁾ 高福^{1, 2)*}

¹⁾中国科学院病原微生物与免疫学重点实验室, 中国科学院微生物研究所, 北京 100101;

²⁾中国科学院北京生命科学研究院, 北京 100101)

摘要 Mx 蛋白是很多物种中干扰素诱导的抗病毒状态的关键成分。它们是一类动素样 GTPase, 具有类似动素的结构和功能特点, 例如自我组装以及和细胞内膜结合。Mx 蛋白独特的性质使其具有广泛的抗病毒活性, 它们作用于病毒进入细胞后不久、病毒基因组复制之前, 抑制病毒复制周期的早期阶段。已知一些 Mx 蛋白识别病毒的核衣壳成分, 干扰病毒基因组的复制。动素家族某些成员的晶体结构已经得到解析, 解析 Mx 蛋白的晶体结构对理解其抗病毒机制以及防治新生突发病毒有重要意义。

关键词 Mx 蛋白, 抗病毒作用, 动素样 GTPase, 晶体结构
学科分类号 Q5

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00730

干扰素(interferon, IFN)是在 50 多年前作为一种抑制流感病毒复制的物质被发现的。现在干扰素被看作是天然免疫反应的重要成分和抗病毒作用的一线分子。IFN 与受体结合后, 诱导超过 300 种干扰素刺激基因(IFN-stimulated genes, ISGs)的表达。但是其中只有较少的几种 ISGs 被证明与抗病毒状态有直接的联系。很多这些基因编码检测病毒分子或者调节信号通路的模式识别受体, 或者形成正反馈环路以增加 IFN 表达的转录因子。现在知道, 干扰素诱导的抗病毒反应至少有 4 条通路: Mx GTPase 通路、ISG15 通路、2'-5'寡腺苷酸(OAS)-激活的 RNaseL 通路、双链 RNA 依赖的蛋白激酶(PKR)通路^[1-2]。其中, Mx 蛋白是少数几种 ISGs 编码的具有直接抗病毒活性的分子之一, 它们是一类鸟苷酸水解蛋白。ISGs 编码的这类蛋白质中的 4 个家族, 即 p47 鸟苷酸结合蛋白(GBPs)、p65 GBPs、极大地可诱导 GTPases (VLIGs)和 Mx 蛋白具有抗病原体的作用。但是, 只有其中 Mx 蛋白的抗病毒作用研究得最为清楚, 并且其表达对 I 型和 III 型干扰素有严格的依赖性^[3]。本文主要概述 Mx 蛋白结构与功能的研究进展。

1 Mx 蛋白的发现及其家族成员

Mx 蛋白是 I 型和 III 型干扰素(IFN)诱导的细胞自身天然抗病毒抗性的关键效应分子。其发现是早年研究小鼠对流感病毒与生俱来抗性的结果。40 多年前 Lindenmann 报道了一种近交系小鼠(A2G), 它们对使一般实验室小鼠致死剂量的流感病毒有高度抗性。以后的工作揭示这种抗性是单个基因 Mx1 造成的, 其产物是一个分子质量 72.5 ku, 等电点为 6.3 的蛋白质。小鼠的 Mx 基因定位于 16 号染色体, 而大多数实验室发现近交系小鼠 Mx1 基因是无功能的, 它们带有大段缺失和无义突变。小鼠基因组还带有第二个 Mx 基因, 称为 Mx2, 与 Mx1 紧密连锁。在近交系小鼠中 Mx2 基因也是缺陷的。在野生小鼠和一些由野生小鼠衍生的实验室小鼠品系中, 两个 Mx 基因都是完整的。

* 通讯联系人。

Tel: 010-64807688, Fax: 010-64807882, E-mail: gaof@im.ac.cn

收稿日期: 2010-03-05, 接受日期: 2010-04-08

人类的 Mx 相关蛋白是用抗小鼠 Mx 蛋白的单克隆抗体发现的, 当时发现了一种人类的干扰素诱导蛋白和小鼠的 Mx1 蛋白的单克隆抗体有交叉反应. 随后发现了编码人类 Mx 蛋白的两个基因 MxA 和 MxB (人类的 Mx 蛋白命名为 MxA 和 MxB, 其他物种的 Mx 蛋白大多命名为 Mx1、Mx2、Mx3 等), 其蛋白质产物分子质量分别为 76 ku 和 73 ku. 两个 Mx 基因都位于 21 号染色体长臂远端(21q22.3)且相互邻近, 它是小鼠 16 号染

色体的同线染色体.

除了人类和小鼠外, 在脊椎动物的不同物种中, 都发现了 Mx 基因, 而且其结构和背景都是保守的. 不同物种的 Mx 蛋白的序列也很保守. 脊椎动物的 Mx 蛋白可以分成 5 组, 包括鱼、鸟、人 MxA- 样、人 MxB- 样和啮齿类组(图 1). 不同物种的 Mx 蛋白大多有不同的抗病毒活性, 但是少数几种 Mx 蛋白, 如人类 MxB 和大鼠 Mx3 蛋白缺乏抗病毒活性^[4].

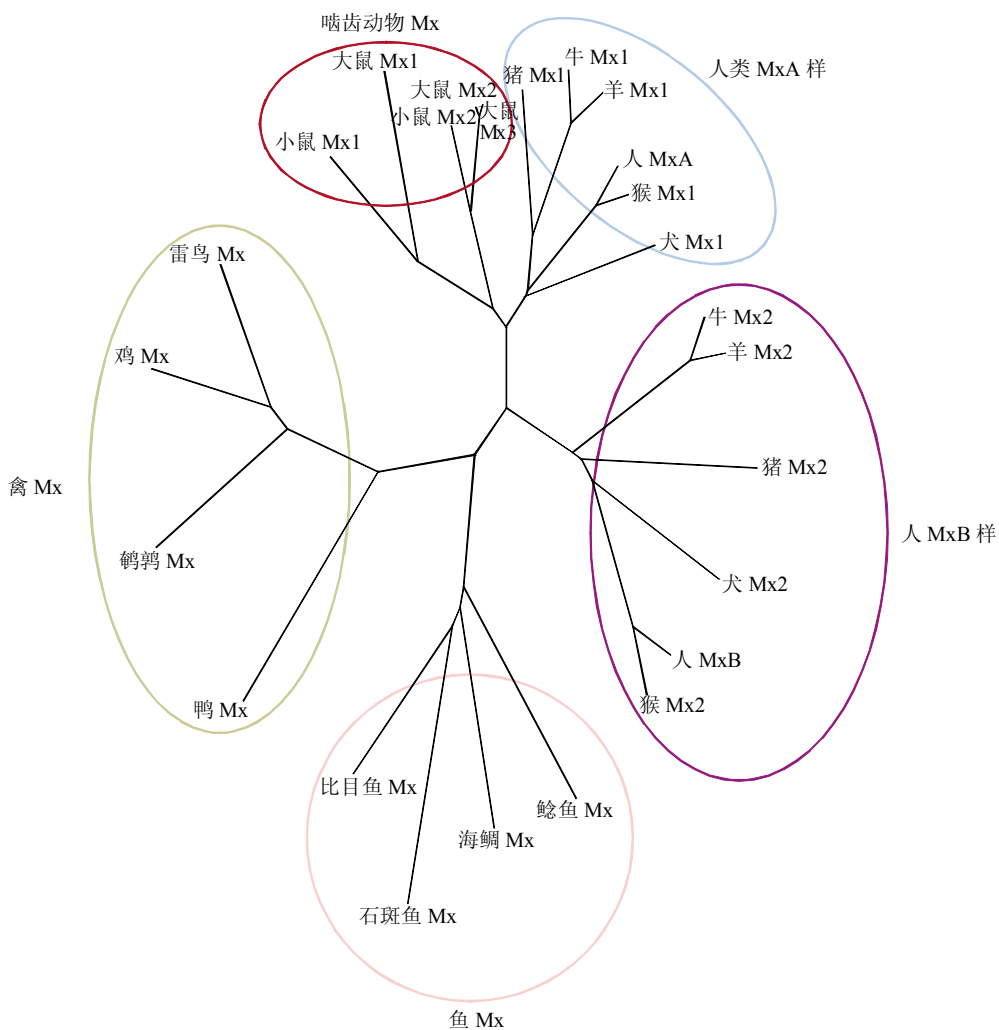


Fig. 1 Phylogenetic analysis of Mx proteins from various species^[4]

图 1 不同物种 Mx 蛋白的进化树^[4]

图中蛋白质序列的 NCBI 登录号分别是: Human MxA: NP_002453; Human MxB: NP_002454; Monkey Mx1: NP_001073161; Monkey Mx2: NP_001073164; Dog Mx1: NP_001003134; Dog Mx2: NP_001003133; Cattle Mx1: NP_776365; Cattle Mx2: NP_776366; Pig Mx1: NP_999226; Pig Mx2: NP_001090885; Mouse Mx1: NP_034976; Mouse Mx2: NP_038634; Rat Mx1: P18588; Rat Mx2: P18589; Rat Mx3: P18590; Chicken Mx: Q90597; Duck Mx: P33238; Quail Mx: ABQ43203; Lagopus Mx: ABQ43202; Sole Mx: Q5U752; Catfish Mx: Q7T2P0; Sea bream Mx: CAJ76076; Epinephelus Mx: ABD95980.

2 Mx 蛋白的结构特征

Mx 蛋白具有和动素相似的结构特征和理化性质^[5]. Mx 蛋白 N 端有一个 GTPase 结构域、中间是一个中央相互作用结构域(CID), C 端有一个带有亮氨酸锌指(LZ)基序的效应结构域(GED)(图 2).

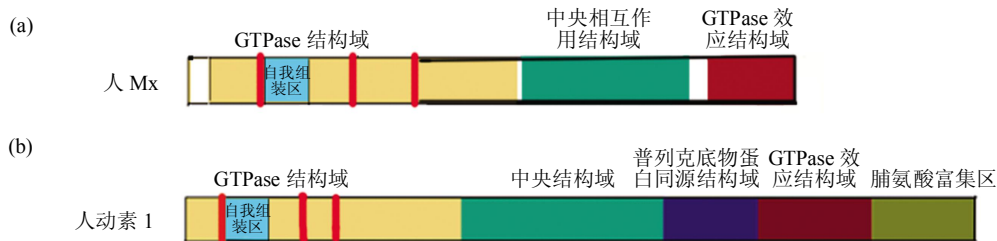


Fig. 2 Schematic diagram of the functional domains of human MxA and dynamin 1^[5]

图 2 MxA 蛋白和人类动素蛋白的结构域模式图^[5]

(a) 人类 MxA, 包括 GTPase 结构域、中央相互作用结构域(CID)和 GTPase 效应结构域(GED). (b) 人动素 1, 包括 GTPase 结构域、中央结构域、GTPase 效应结构域(GED)、普列克底物蛋白同源结构域(PH)和脯氨酸富集区(PRD). GTPase 结构域包含 3 个 GTP 结合基序(红色)和一个自我组装区(SAD).

动素样 GTPase 的共同特征自我组装形成高度有序的多聚体并协同水解 GTP 的能力. 纯化的 Mx 蛋白形成高分子质量的同源寡聚体并自我组装成为环状螺旋形的结构. 自我组装对于 Mx 蛋白的 GTPase 活性、蛋白质稳定性以及识别病毒靶结构都很关键. 612 位亮氨酸突变成丙氨酸突变形式(L612K)的人类 MxA 蛋白, 同时失去了自我组装和水解 GTP 的能力, 这表明寡聚化是 GTPase 的主要调节因素.

人类 MxA 分布在胞浆中, 浮力密度梯度离心分析以及共聚焦显微镜分析揭示 Mx1 能与胞浆中的膜结合. 免疫电镜分析表明与 MxA 结合的膜属于滑面内质网 - 高尔基体中间成分. 而且 MxA 在体外与脂质囊泡结合并使其形成管状. 这一点与经典的动素非常相似. 但是现在不清楚 MxA 是怎样与脂膜相互作用的, 因为 Mx1 没有 PH 结构域, 也没有富含疏水氨基酸的区域.

人类 MxB 与 MxA 的不同之处在于其 N 端延伸区有核定位序列, 而没有可检测到的抗病毒活性. MxB 定位于核内或胞浆与核孔的界面, 可能起调节核 - 胞浆转运或调节细胞周期运转的作用.

3 Mx 蛋白的抗病毒作用

Mx 蛋白抗病毒特异性似乎在一定程度上反映

含有由三部分组成的 GTP- 结合位点的 N 端区高度保守, 而 C 端变异较大. 某些 Mx 蛋白如小鼠 Mx1 蛋白 C 端有由碱性氨基酸组成的核定位信号. Mx 蛋白没有经典动素的普列克底物蛋白同源结构域(PH), 也没有脯氨酸富集区(PRD). CID 和 GED 可能是通过一个对蛋白酶 K 敏感的铰链连接在一起的.

了其亚细胞定位. 核定位的 Mx1(啮齿动物 Mx1)赋予细胞对正黏病毒, 如流感病毒(IV)和披膜病毒(THOV)的抗性, 已知这些病毒在细胞核中复制. 而胞浆 Mx 蛋白(如啮齿动物 Mx2)抑制在胞浆中复制病毒的繁殖, 如弹状病毒科病毒(例如水泡性口炎病毒, VSV)和布尼亚病毒科病毒(例如克罗斯病毒, LACV). 某些胞浆 Mx 蛋白, 如人类 MxA 蛋白有广泛的抗病毒谱, 能抑制不同类型的病毒, 与病毒在细胞内的复制位置无关. 例如对人 MxA 敏感的病毒包括布尼亚病毒科、正黏病毒科、副黏病毒科、弹状病毒科、披膜病毒科、细小核糖核酸病毒科、呼肠孤病毒科和乙型肝炎病毒^[6]. 最近发现, MxA 蛋白的 HBV 抗病毒作用与 MxA 基因启动子区 -88 和 -123 位多态性有关, -88G 和 -123A 单元型与 HBV 感染有显著的相关性^[7]. 鱼类的 Mx 蛋白也被证明有抗病毒作用, 例如大西洋鲑的 Mx1 蛋白能抑制一种被称为传染性鲑鱼贫血症病毒的流感样病毒 (ISAV), 也能抑制传染性胰坏死病毒 (IPNV), 后者是一种水生生物的双链 RNA 病毒^[8].

虽然对 Mx 蛋白的作用机制在很多种病毒都曾经研究过, 但是这方面的理解还很不完全. Mx 蛋白最早是作为一种抗流感病毒蛋白被发现. 当表达 Mx1 的细胞感染流感病毒时, 病毒 mRNA 合成水平不减少, 而病毒蛋白质合成和基因组扩增明显受

到抑制. 定位于细胞核的小鼠 Mx1 或者加上核定位信号的人 MxA 可以抑制病毒转录, 而且过表达 NP 和 PB2 可以抑制核 Mx1 的抗病毒活性. 表明 Mx1 可能和流感病毒 NP 或 PB2 形成复合物^[9]. 尤其重要的是, Mx 蛋白对高致病性流感病毒, 如 H5N1 病毒和 1918 年西班牙大流感病毒都有抗病毒活性^[10-11]. 流感病毒的不同毒株对特定宿主的毒力有显著差异, 这种差异可能与 Mx 蛋白对不同毒株的敏感性有关. 实验发现 Mx1 抑制 H5N1 禽流感病毒的作用比抑制 1918 年 H1N1 毒株强. 而且对不同毒株抑制能力的差异与 NP 有关. 这些结果表明 Mx 蛋白对 1918 年毒株不敏感可能是引起不同寻常的高毒力的原因之一, 这方面的工作值得进一步研究. Mx 蛋白是禽流感病毒传播到人类的一个跨物种传播的屏障^[12].

对于 THOV(披膜病毒)和 LACV(克罗斯病毒), Mx 蛋白被证明与病毒的核衣壳样结构有相互作用^[13-14]. 定位于细胞浆的人类 MxA 能作用于在细胞浆中组装好的披膜病毒的核衣壳(vRNP, 由 PA、PB1、PB2、NP 组成), 抑制其转位于细胞核, 从而干扰其转录活性. 但是如果 vRNP 的组装发生在细胞核中, 则 MxA 不起作用. MxA 还能与布尼亚病毒的克罗斯病毒的核衣壳蛋白(N)结合形成 Mx1 多聚体. Mx1 与病毒 N 蛋白结合发生在滑面内质网/高尔基体的边界, 导致 N 蛋白不能被转运到病毒的复制位点. 因此, Mx1 的一般作用模式是: 细胞内膜作为脚手架以有序的方式将 Mx1 蛋白展示在细胞浆侧, Mx1 识别病毒的靶结构导致募集越来越多的 Mx1 分子, 从而形成共聚体, 有效地固定病毒成分并导致病毒成分分选错误.

现有实验证据表明, Mx 蛋白的 GTPase 活性是抗病毒作用所必需的, 向其 GTP 结合基序中引入突变使其 GTP 结合能力下降和 GTPase 活性减小, 则其抗病毒活性也减小^[15]. 其 C 端的亮氨酸锌指(LZ)也是抗病毒活性所必需的^[16-17].

细胞内可能存在两种形式的 Mx 蛋白, 一种是没有抗病毒活性的多聚体形式, 另一种是有抗病毒活性的单体形式. 多聚化的作用是提高蛋白质的稳定性, 防止降解. 当病毒感染细胞后, 病毒靶结构诱导 Mx 蛋白的多聚体解聚, 发挥其强大的抗病毒活性. GED 反向回折是多聚化形成的前提. 反向回折的 GED 与 CID 形成稳定的分子内相互作用后, CID 才能与另一个 Mx 分子的 CID 形成分子间相互作用, 进而形成 Mx 蛋白的多聚体^[18]. 反向回

折的 GED 还与 GTPase 结构域相互作用, 调节 GTPase 的活性^[19].

4 Mx 蛋白的体外表达制备及生物化学性质分析

4.1 原核表达

人类的 MxA 蛋白和小鼠 Mx1 蛋白可以在大肠杆菌中表达^[15, 20-21]. N 端带有 6 个组氨酸标签的 Mx 蛋白在大肠杆菌中表达后, 用镍亲和色谱和阴离子交换色谱纯化后纯度大于 98%. 这样纯化得到的蛋白质在凝胶过滤分析中为多聚体, 平均大小的多聚体分子质量为 2 000 ku, 也就是说大约由 30 个 His-MxA 组成, 而 76 ku 单体很少. 多聚体的 His-MxA 具有 GTPase 活性, 其特异性水解 GTP 的活性 $50 \sim 350 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$, K_m 值为 $260 \mu\text{mol/L}$, 对 GTP 和 GDP 的 K_d 值分别是 $20 \mu\text{mol/L}$ 和 $100 \mu\text{mol/L}$.

在高盐溶液(300 mmol/L NaCl)中, Mx 蛋白聚集的程度较低, 超速离心后 Mx 蛋白主要存在于上清中, 而沉淀中较少, 离心前的溶液在电镜下可见球形或短纤维状的颗粒. 在低盐溶液(50 mmol/L 和 150 mmol/L NaCl)中, Mx 蛋白聚集的程度较高, 超速离心后 Mx 蛋白出现于沉淀中, 电镜证实出现了直径为 20 nm 的长纤维状结构. 在 37°C 下, 低盐溶液中的长纤维状结构解体, 形成较短的片段. Mx 蛋白与 GDP 结合后形成环形结构, 外环直径为 60 nm, 内环直径为 40 nm. 而与 GTP 结合后形成堆积的螺旋状的结构. 这些结果表明, Mx 蛋白具有自我组装形成多聚体的性质, 其自我组装受到温度、盐浓度和鸟嘌呤核苷酸的影响.

4.2 昆虫细胞表达

小鼠 Mx1 蛋白杆状病毒重组体感染悬浮的草地夜蛾细胞 68 h 后收获并破碎细胞, 低速离心收集细胞核, 再加入含有 50% 乙二醇的 0.42 mol/L NaCl 提取细胞核. 细胞核提取物经过 DEAE-葡聚糖柱除去核酸、Sephacryl S-300 分子筛得到纯化的蛋白质. 纯化的蛋白质在解聚溶剂 50% 乙二醇中以二聚体和三聚体的形式存在, 而在生理缓冲液中以多聚体的形式存在. 这种方法提取到的小鼠 Mx1 蛋白占核蛋白的 10%, 在分子筛层析时表现为多聚体. 聚体形成不是由于分子间二硫键, 因为在 SDS-PAGE 时, 无论是否存在 β -巯基乙醇(β -ME), 提取到的 Mx1 和细胞核总 Mx1 都呈现单一的 72 ku 条带. 向缓冲液中加入 50% 乙二醇,

Mx1 蛋白的提取得率达到 70%~80%，并且主要以二聚体或三聚体的形式存在，也有少量的单体。昆虫细胞表达的 Mx1 蛋白没有磷酸化和糖基化。细胞水平上的交联实验也表明细胞内的 Mx1 蛋白是二聚体和三聚体^[21]。

5 动素家族蛋白的结构研究

5.1 细菌动素样蛋白的晶体结构

蓝细菌 *Nostoc punctiforme* 的细菌动素样蛋白 (BDLP) 在 GDP 类似物存在时具有自身组装的能力，形成纤维状的结构修饰脂质体，使脂质体双层形成管状。在晶体结构中，与 GDP 结合的 BDLP 形成二聚体。分析超速离心的结果表明：在 GDP 存在时 BDLP 在溶液中表现为单体和二聚体平衡的状态，其 K_d 值为 30 $\mu\text{mol/L}$ 。

不结合 GDP 的 BDLP 晶体生长条件为：100 mmol/L Tris-HCl (pH 7.1)，3.5% PEG 6000，100 mmol/L KCl。结合 GDP 的 BDLP 晶体生长条件为 100 mmol/L NaAc (pH 4.55)，3.5% PEG 4000，

15%甘油。与 GDP 结合形式以及不结合 GDP 形式的晶体结构都包括一个 GTPase 头部、一个四螺旋颈部、一个束状的躯干部、一个顶端部。在 BDLP 晶体结构中，根据一级结构预测的中间结构域和 GED 不是分开的实体，而是相互平行的四个螺旋束，既参与构成颈部，又参与构成躯干部。GTPase 结构域 (68~287) 有一个长的 helix-loop-helix 端 (1~67)，对颈部起着支撑作用。C 端的 GED 结构域 (607~693) 不与 GTPase 结构域接触，可能仅参与多聚化。顶端部由 2 个螺旋组成。螺旋 15、16 和 17 (412~449) 来自预测的中间结构域，形成灵活的上层，而 C 端的螺旋 20 与螺旋 21 相互连接 (572~606)，在分子底部形成运动踏板。这个踏板处于预测的中间结构域和 GED 之间，可能介导脂结合 (图 3)。BDLP 在没有去污剂的情况下溶解度很高，而踏板螺旋根据预测极有可能是跨膜的。踏板插入脂质双层可能是促进膜弯曲的一种分子机制。在经典的真核动素分子中，额外的 PH 结构域可能代替踏板区，起同样的作用^[23]。

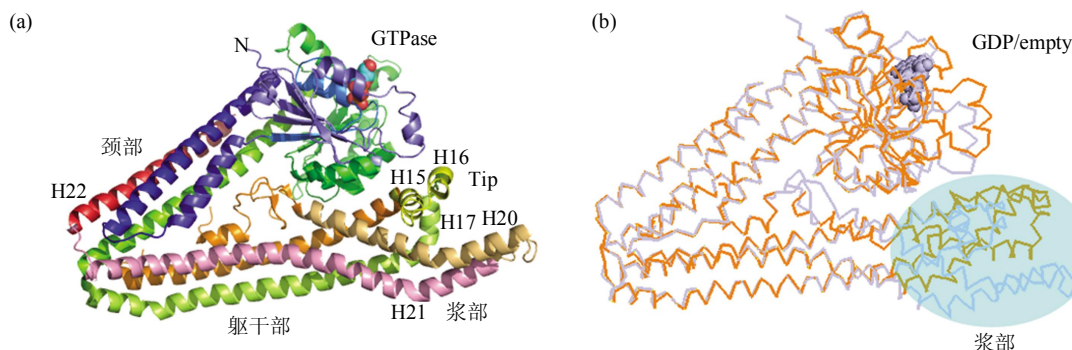


Fig. 3 Crystal structure of bacterial dynamin-like protein^[23]

图 3 细菌动素蛋白的晶体结构^[23]

(a)GDP 结合的 BDLP 结构包括一个 GTPase 头部、一个四螺旋颈部、一个束状的躯干部、一个顶端部。(b) GDP 结合的 BDLP 结构与不结合 GDP 结合的 BDLP 结构的叠加图。在分子底部的踏板区可能是其与膜相互作用的部位。

5.2 人类鸟苷酸结合蛋白-1 的晶体结构

人类鸟苷酸结合蛋白 (hGBP) 也是一类动素家族干扰素诱导的抗病毒蛋白，分子质量为 67 ku。与 Mx 蛋白不同的是，诱导产生 hGBP 的主要是 II 型干扰素即 IFN- γ ，而且其对 VSV 的抗病毒作用较弱。最近的研究表明 hGBP 有较显著的抑制 HCV (丙型肝炎病毒) 复制的作用^[24]。GBP-1 是第一个结晶的大 GTPase，其晶体结构为大 GTPase 家族其他

成员，包括 Mx 蛋白提供了一个结构模型。

不结合核苷酸的全长 hGBP1 蛋白晶体在 5% PEG6000，100 mmol/L MES，pH 6.0 和 20 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下生长^[25]。整个结构可以分成紧密的、球状的 α 、 β -结构域(称为大 G 结构域，LG，6~278)和一个延伸的、完全由 α 螺旋组成的结构域。这两个结构域之间是一个由 α 螺旋和一个短的双股 β 片层结构组成的连接区。螺旋结构域包括两个螺旋

束, 分别由 $\alpha 7$, $\alpha 8$, $\alpha 9$ (311~403) 和 $\alpha 9$, $\alpha 10$, $\alpha 11$ (404~482) 组成, 其中 $\alpha 9$ 为两个螺旋束所公用. 靠近并覆盖在这两个螺旋束上方的是很长的 $\alpha 12$, 它反向回折一直到达 LG 结构域. 根据预测, 此螺旋是一个卷曲螺旋, 包括 78 个氨基酸, 伸展

长度达到 118 Å. 在其 C 端, 一个螺旋转角又引出了另一个短螺旋 $\alpha 13$, 它与 $\alpha 12$ 形成卷曲螺旋型相互作用. 因此, 螺旋结构域实际上是由两个次级结构域组成: 一个由两个螺旋束组成, 另一个即 $\alpha 12/\alpha 13$ (图 4).

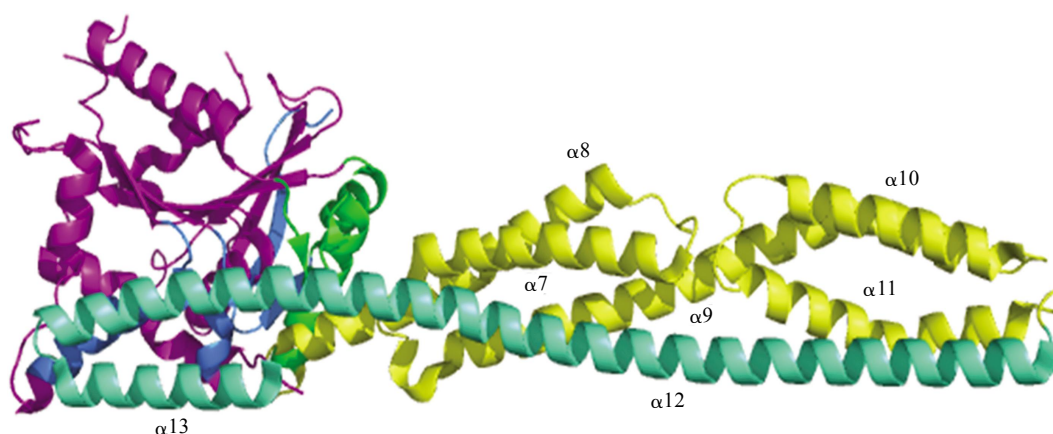


Fig. 4 Crystal structure of hGBP-1^[25]

图 4 hGBP-1 的晶体结构^[25]

分子由 LG 结构域(purple)、连接区(green)、螺旋束(yellow)和 $\alpha 12/13$ 结构域(cyan)部分组成.

生化研究和结构预测提示 Mx 蛋白和动素的结构有很多和 hGBP-1 结构相吻合的特点. 例如, Mx 蛋白和动素都有一个约 300 个氨基酸 GTPase 结构域、150~200 个氨基酸的“中间”结构域和 100 个氨基酸左右的效应结构域(GED). 这与 hGBP-1 的 LG、螺旋束和 $\alpha 12/13$ 结构域在大小上相吻合. hGBP-1 有核苷酸依赖的多聚化性质. 在不存在或存在 GDP 核苷酸条件下, hGBP-1 在分子筛层析中表现为单体. 但是, 当其与不水解的 GTP 类似物 GppNHp 结合后, 则发生多聚化. 二级结构预测提示 Mx 蛋白和动素的中间结构域和 GED 为螺旋和 / 或螺旋蜷曲结构, 这与 hGBP-1 的 $\alpha 7\sim 12$ 相一致. 有限蛋白降解实验和酵母双杂交研究表明, Mx 蛋白的 C 端反向折叠与 GTPase 结构域以及中间结构域相互作用, 而这就像在 hGBP-1 结构中 $\alpha 12$ 反向折叠与螺旋束相互作用一样.

6 展 望

Mx1 的抗病毒作用给我们展示了一个有用蓝图. 比如说, 猪对流感病毒敏感, 并且是流感病毒的重要混合器. 猪有 Mx 基因, 但是引入作用更强

的 Mx 基因可能提高其对病毒的抗病性, 因此, 对 Mx 蛋白的研究与猪的抗病育种密切相关^[26]. 另外, 某些品种鸡的 Mx 蛋白没有抗病毒活性^[27], 因此在这些鸡体内表达有抗病毒活性的 Mx 蛋白也很有意义. 禽流感病毒是养禽业的重大威胁, 如果能广泛养殖 Mx- 转基因鸡和其他的家禽、家畜, 则可能控制动物源性人类流感大流行. 解析 Mx 蛋白的晶体结构, 并在此基础上分析其抗病毒机制, 进行分子工程改造, 这对防控新生突发病毒、尤其是人畜共患病毒具有十分重要的意义.

参 考 文 献

- [1] Brass A L, Huang I C, Benita Y, *et al.* The IFITM proteins mediate cellular resistance to influenza A H1N1 virus, West Nile virus, and dengue virus. *Cell*, 2009, **139**(7): 1243-1254
- [2] Haller O, Kochs G, Weber F. Interferon, Mx, and viral countermeasures. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2007, **18** (5-6): 425-433
- [3] MacMicking J D. IFN-inducible GTPases and immunity to intracellular pathogens. *Trends Immunol*, 2004, **25**(11): 601-609
- [4] Haller O, Stertz S, Kochs G. The Mx GTPase family of interferon-induced antiviral proteins. *Microbes Infect*, 2007, **9**(14-15): 1636-1643
- [5] Haller O, Staeheli P, Kochs G. Interferon-induced Mx proteins in

- antiviral host defense. *Biochimie*, 2007, **89**(6-7): 812-818
- [6] Sadler A J, Williams B R. Interferon-inducible antiviral effectors. *Nat Rev Immunol*, 2008, **8**(7): 559-568
- [7] Cao B, Liu X, Hou F, *et al.* The haplotype of the MxA gene promoter is associated with hepatitis B virus infection in a Chinese population. *Liver Int*, 2009, **29**(9): 1383-1388
- [8] Robertsen B. Expression of interferon and interferon-induced genes in salmonids in response to virus infection, interferon-inducing compounds and vaccination. *Fish Shellfish Immunol*, 2008, **25**(4): 351-357
- [9] Turan K, Mibayashi M, Sugiyama K, *et al.* Nuclear MxA proteins form a complex with influenza virus NP and inhibit the transcription of the engineered influenza virus genome. *Nucleic Acids Res*, 2004, **32**(2): 643-652
- [10] Van Hoeven N, Belser J A, Szretter K J, *et al.* Pathogenesis of 1918 pandemic and H5N1 influenza virus infections in a guinea pig model: antiviral potential of exogenous alpha interferon to reduce virus shedding. *J Virol*, 2009, **83**(7): 2851-2861
- [11] Haller O, Staeheli P, Kochs G. Protective role of interferon-induced Mx GTPases against influenza viruses. *Rev Sci Tech*, 2009, **28**(1): 219-231
- [12] Dittmann J, Stertz S, Grimm D, *et al.* Influenza A virus strains differ in sensitivity to the antiviral action of Mx-GTPase. *J Virol*, 2008, **82**(7): 3624-3631
- [13] Haller O, Kochs G. Interferon-induced mx proteins: dynamin-like GTPases with antiviral activity. *Traffic*, 2002, **3**(10): 710-717
- [14] Reichelt M, Stertz S, Krijnse-Locker J, *et al.* Misrouting of LaCrosse virus nucleocapsid protein by the interferon-induced MxA GTPase involves smooth ER membranes. *Traffic*, 2004, **5**(10): 772-784
- [15] Pitossi F, Blank A, Schroder A, *et al.* A functional GTP-binding motif is necessary for antiviral activity of Mx proteins. *J Virol*, 1993, **67**(11): 6726-6732
- [16] Johannes L, Kambadur R, Lee-Hellmich H, *et al.* Antiviral determinants of rat Mx GTPases map to the carboxy-terminal half. *J Virol*, 1997, **71**(12): 9792-9795
- [17] Ponten A, Sick C, Weeber M, *et al.* Dominant-negative mutants of human MxA protein: domains in the carboxy-terminal moiety are important for oligomerization and antiviral activity. *J Virol*, 1997, **71**(4): 2591-2599
- [18] Di Paolo C, Hefji H P, Meli M, *et al.* Intramolecular backfolding of the carboxyl-terminal end of MxA protein is a prerequisite for its oligomerization. *J Biol Chem*, 1999, **274**(45): 32071-32078
- [19] Schwemmler M, Richter M F, Herrmann C, *et al.* Unexpected structural requirements for GTPase activity of the interferon-induced MxA protein. *J Biol Chem*, 1995, **270**(22): 13518-13523
- [20] Richter M F, Schwemmler M, Herrmann C, *et al.* Interferon-induced MxA protein. GTP binding and GTP hydrolysis properties. *J Biol Chem*, 1995, **270**(22): 13512-13517
- [21] Kochs G, Haener M, Aebi U, *et al.* Self-assembly of human MxA GTPase into highly ordered dynamin-like oligomers. *J Biol Chem*, 2002, **277**(16): 14172-14176
- [22] Melen K, Ronni T, Broni B, *et al.* Interferon-induced Mx proteins form oligomers and contain a putative leucine zipper. *J Biol Chem*, 1992, **267**(36): 25898-25907
- [23] Low H H, Lowe J. A bacterial dynamin-like protein. *Nature*, 2006, **444**(7120): 766-769
- [24] Itsui Y, Sakamoto N, Kakinuma S, *et al.* Antiviral effects of the interferon-induced protein guanylate binding protein 1 and its interaction with the hepatitis C virus NS5B protein. *Hepatology*, 2009, **50**(6): 1727-1737
- [25] Prakash B, Praefcke G J, Renault L, *et al.* Structure of human guanylate-binding protein 1 representing a unique class of GTP-binding proteins. *Nature*, 2000, **403**(6769): 567-571
- [26] Muller M, Brenig B, Winnacker E L, *et al.* Transgenic pigs carrying cDNA copies encoding the murine Mx1 protein which confers resistance to influenza virus infection. *Gene*, 1992, **121**(2): 263-270
- [27] Ko J H, Jin H K, Asano A, *et al.* Polymorphisms and the differential antiviral activity of the chicken Mx gene. *Genome Res*, 2002, **12**(4): 595-601

Structural and Functional Studies of The Innate Immune Effector Mx Proteins: a Review

SUN Ye-Ping¹⁾, GAO George F.^{1,2)*}

¹⁾ CAS Key Laboratory of Pathogenic Microbiology and Immunology, Institute of Microbiology, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101;

²⁾ Beijing Institutes of Life Science, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101)

Abstract Mx proteins are one of the key components of the antivirals induced by interferons in many species. They are a class of dynamin-like GTPases and share structural and functional properties with dynamin, such as self-assembly and association with intracellular membranes. A unique property of some Mx proteins is their antiviral activity against a wide range of viruses. These viruses are inhibited at an early stage in their life cycle, soon after the entry into the host cell and before their genome amplification. It is known now that some Mx proteins recognize the viral nucleocapsid components and interfere with their role in viral genome replication. Crystal structures of some members of dynamin-like GTPase have been solved. Solution of the crystal structures of Mx proteins is of major significance for not only understanding their antiviral function but also prophylaxis and control of the emerging and re-emerging viruses.

Key words Mx proteins, antiviral functions, dynamin-like GTPase, crystal structure

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2009.00730

*Corresponding author.

Tel: 86-10-64807688, Fax: 86-10-64807882, E-mail: gaof@im.ac.cn

Received: March 5, 2010 Accepted: April 8, 2010