

病毒融合蛋白的结构和功能*

慈雅丽 许彩民 石磊**

(中国医学科学院基础医学研究所, 医学分子生物学国家重点实验室, 北京 100005)

摘要 病毒融合蛋白可以分为三种类型, 不同类型的病毒融合蛋白的结构差异很大, 但是会采用相似的“发卡”构象实现融合。在一定条件下, 病毒融合蛋白的疏水结构域, 融合环或融合肽插入靶膜中, 通过其自身折叠形成发卡使病毒和宿主的膜靠近。与此同时, 融合蛋白构象变化会释放出足够的能量将双方膜打破并完成融合。本文中, 我们总结了三种类型病毒融合蛋白的特征, 并对其中央发卡三聚体结构域、跨膜结构域以及近膜结构域在融合过程中的作用进行了论述。

关键词 病毒融合蛋白, 膜融合, 构象变化

学科分类号 Q2

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0055

生物膜融合是一种重要的生理过程, 融合过程可以在细胞(受精作用、肌细胞融合)、亚细胞(线粒体融合、内质网-溶酶体融合)以及亚细胞器(囊泡融合、病毒融合)等多个水平上发生。膜融合过程是一个多步骤反应过程, 并且需要突破一系列的能障。病毒融合过程参与到病毒的侵染和传播, 因此备受关注。在病毒融合过程中, 首先通过病毒融合蛋白与靶细胞的识别结合将对侧膜拉近, 在此过程

中需要病毒融合蛋白提供能量来克服对侧膜之间的静电斥力。接着由于融合肽/环的插入导致脂质双层亲水稳定性被破坏, 脂质排列的有序性被打破, 对侧膜结构开始在能量驱动下经历一系列融合中间态, 其中包括近侧脂单层融合、融合茎的形成、半融合中间态、融合孔开放、融合孔扩大、病毒内容物释放^[1](图 1)。

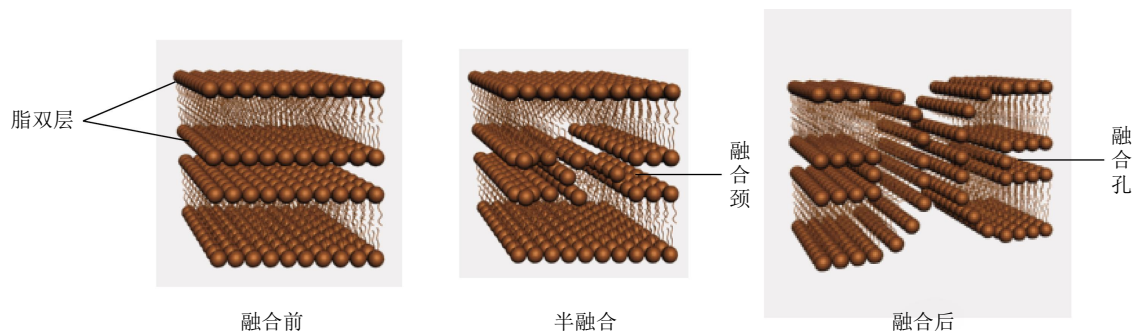


Fig. 1 The intermediates of membrane fusion
图 1 膜融合中间态

* 国家自然科学基金资助项目(31470813).

** 通讯联系人.

Tel: 010-69156414, E-mail: shilei@ibms.pumc.edu.cn

收稿日期: 2016-05-02, 接受日期: 2016-08-25

包膜病毒表面覆盖有脂质双分子层, 这层脂双层主要是来源于宿主细胞的细胞膜或细胞器膜, 这也就使病毒能够逃逸于宿主的免疫系统, 实现侵染. 因此, 包膜病毒一直都是人类健康的巨大威胁之一, 并引起人们极大的担忧. 由于包膜的存在, 包膜病毒进入宿主细胞的过程中需要经历病毒包膜和宿主细胞质膜或内吞体膜的融合过程, 而这一过程就是由病毒融合蛋白所介导的. 大多数的病毒融合蛋白在特殊刺激条件下(如与宿主细胞表面的受体结合和 / 或低 pH)发生剧烈的构象变化, 融合环 / 融合肽暴露并插入到宿主细胞膜上, 引起脂质双层的稳定性下降, 同时伴随能量的释放, 从而实现融合^[2]. 病毒融合蛋白主要具有融合前和融合后两种构象, 融合前构象中融合肽 / 环被自身的其他结构域或其他蛋白组分所包裹, 因而无法暴露出来插入靶膜中, 如 HIV 的融合蛋白 gp41 在融合前被 gp120 结合, 封闭融合肽的插入位点, 防止 gp41 的变构, 而黄病毒的 E 蛋白在融合前由 prM 蛋白

作为分子伴侣来维持其构象的稳定. 当病毒融合蛋白或其辅助蛋白与靶膜上的受体识别并结合, 或者是在内吞体低 pH 的刺激下, 病毒融合蛋白才能发生变构, 这也保证了融合事件的时间和空间特异性, 有些蛋白还要经历蛋白酶的切割才能完成变构过程, 如流感病毒的血凝素(hemagglutinin, HA)蛋白. 病毒融合蛋白的构象变化是融合过程的关键, 该过程一旦受阻便会影响融合的发生, 抑制病毒感染^[3].

1 病毒融合蛋白的分类

病毒融合蛋白有 3 种类型, 这 3 种类型的病毒融合蛋白的结构特征各不相同但融合机制却是相似的(图 2). 病毒融合蛋白在特定的刺激条件下从融合前构象转变为融合后构象, 构象的变化不仅将对侧膜拉近, 同时也提供了大量的能量帮助其克服融合过程中的能障, 从而实现脂双层的融合.

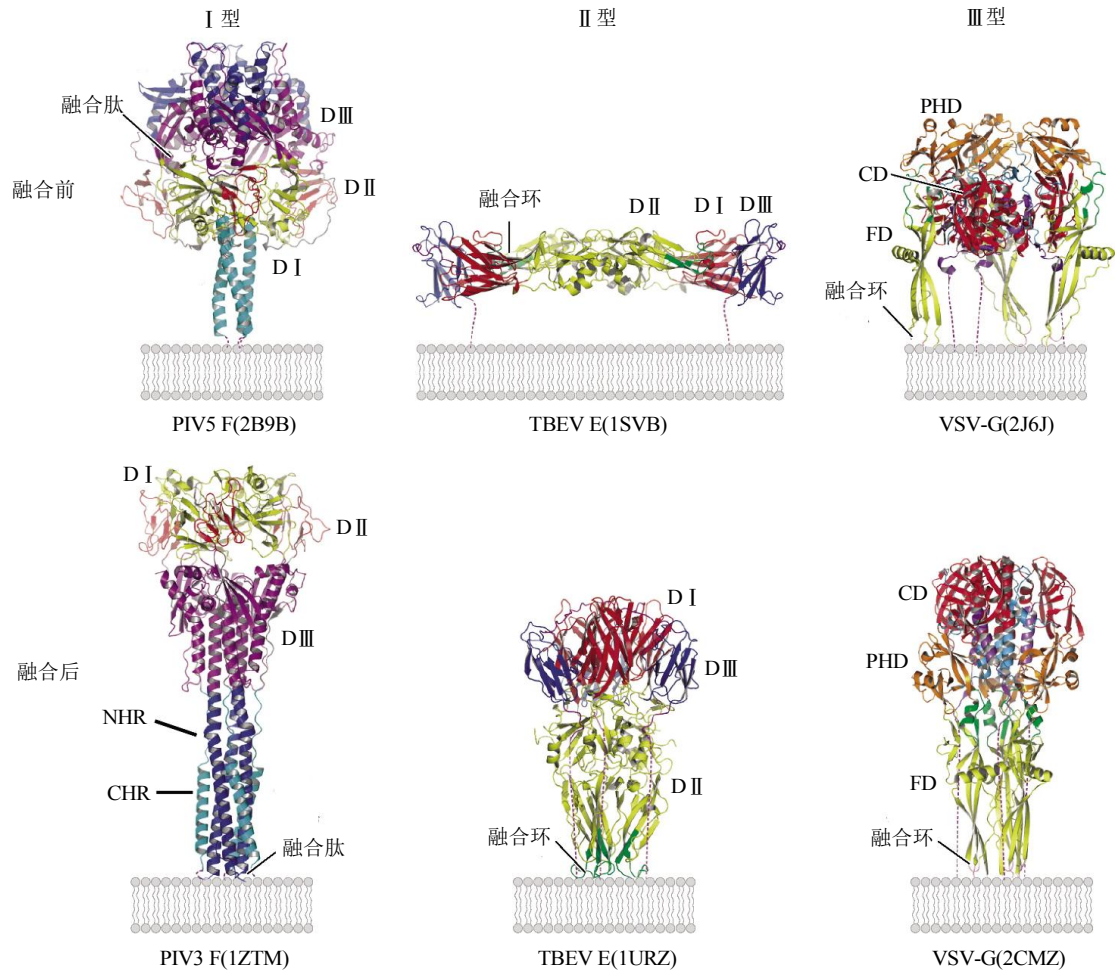


Fig. 2 Three types of viral fusion protein^[4]

图 2 三种类型病毒融合蛋白^[4]

1.1 I 型病毒融合蛋白

I 型病毒融合蛋白的构象特征在于其融合后构象中包含一个高度稳定的棒状结构, 这个棒状结构中央是由 3 个 α 螺旋组成的螺旋卷曲结构^[5]. 不同 I 型病毒融合蛋白中央 α 螺旋的氨基酸序列不尽相同, 但是它们在融合后构象中央同样都会形成保守的 6 螺旋束的结构. 典型的 I 型病毒融合蛋白包括流感病毒的血凝素(hemagglutinin, HA)蛋白、副流感病毒 F 蛋白、人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)的 gp41 以及埃博拉病毒表面糖蛋白.

融合前, I 型病毒融合蛋白通常折叠形成亚稳态三聚体, 激活后(如与受体结合, 低 pH), 它们发生不可逆的蛋白酶解切割并经历巨大的构象变化, 形成发卡三聚体的融合后构象, 同时伴随着大量能量的释放促进融合事件的发生.

1.2 II 型病毒融合蛋白

II 型病毒融合蛋白具有独特的起源, 其分子结构与 I 型病毒融合蛋白完全不同^[6]. II 型病毒融合蛋白一般会在内质网中与其他作为伴侣分子的病毒包膜蛋白形成复合物. 二者形成的异源二聚体结构对于融合蛋白的准确折叠和转位十分重要. II 型病毒融合蛋白的主要特征在于其融合后的构象中有一个独特的结构标志, 胞外结构域以 β 片层结构形成一种完全不同于 I 型病毒融合蛋白螺旋卷曲的发卡三聚体结构. 虫媒病毒和甲病毒表面的融合原均为典型的 II 型病毒融合蛋白.

融合前 II 型病毒融合蛋白与包膜上的伴侣分子形成亚稳态的异源二聚体, 激活后, 其发生剧烈的构象变化, 经过复杂的寡聚化重排后异源二聚体解聚并形成稳定的同源三聚体构象, 这一系列构象变化是其融合的必经过程. 病毒通过内吞进入细胞后, 在内吞体内低 pH 的作用下, 异源二聚化的伴侣分子经历酶切引发病毒融合蛋白的构象变化, 进而发生融合.

1.3 III 型病毒融合蛋白

III 型病毒融合蛋白是一类特殊的融合原, 它兼具 I 型和 II 型病毒融合蛋白的结构特征. 水疱性口炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)包膜表面的糖蛋白就属于 III 型病毒融合蛋白, 这也是最早解析出融合前^[7] / 后^[8]晶体结构的 III 型病毒融合蛋白^[9]. VSV-G 融合前后构象变化是由低 pH 触发的, 并且其构象变化是一个可逆的过程, 一旦 pH 恢复中性其构象会重新回复到融合前的构象, 这也是其区别于其他类型病毒融合蛋白的重要特征.

在内吞体的酸性环境中, 低 pH 引起 VSV-G 发生构象变化, 其中央三聚体 α 螺旋结构延伸导致其融合环的相对位置发生移动, 伸向靶细胞膜. VSV-G 含有 2 个融合环, 低 pH 活化后其融合环插入靶细胞内吞体膜导致靶膜脂双层稳定性下降, 进入适于发生融合的状态. 其中央的三聚体核心同样包含一个 α 螺旋发卡三聚体, 该三聚体结构形成一个 6 螺旋束结构. 中央三聚体结构的折叠缠绕被认为在融合过程中发挥重要作用.

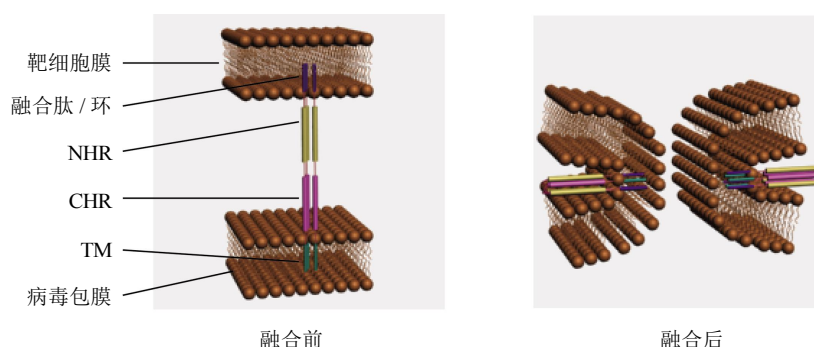


Fig. 3 The model of viral fusion protein mediated fusion process

图 3 病毒融合蛋白介导融合模型

2 病毒融合蛋白作用机制

2.1 中央螺旋束结构提供融合能量

许多病毒融合蛋白, 尤其是 I 型病毒融合蛋

白, 在融合肽和跨膜区之间都是其中央核心融合结构域, 该结构域主要包含 2 个七肽重复序列(heptad repeats, HR), 分别称作 N 端七肽重复序列 (NHR) 和 C 端七肽重复序列 (CHR)^[10-12]. 融合过程中病毒

融合蛋白的中央核心发卡三聚体会形成热力学稳定的 6 螺旋束结构 (6HB)^[12-13]。以 I 型病毒融合蛋白为例, 一般而言 NHR 在融合前会预先形成三聚体结构, 融合激活后 CHR 以反平行的方式结合到 NHR 螺旋三聚体表面的沟中^[10-11]。

正是由于这种反平行的组装方式, 融合后病毒融合蛋白就可以形成发卡结构, 进而将分别由跨膜区和融合肽锚定的病毒和宿主细胞膜拉近, 以利融合事件的发生。中央 6 螺旋束不仅能够起到拉近两侧膜结构的距离的作用, 更重要的是通过 6 螺旋结构的折叠释放大量的折叠能, 这种能量被认为提供了打破融合能障的主要能量, 对于融合率的提高意义重大。Jiao 等^[14-15]指出, 1 个 gp416 螺旋束的总折叠能与 1 个 SNARE 复合物的折叠能相近, 这就提示 1 个 gp41 三聚体的 6 螺旋束就能够提供足够膜融合的能量^[16-17]。

最近, Allen 等^[18]利用 DOCK 程序针对 NHR 三聚体内的结合位点筛选得到了一些新的小分子抑制剂, 可以通过抑制 NHR 三聚体的形成抑制病毒的感染^[19]。此外, 一些靶向流感病毒保守的茎杆结构域(即中央螺旋结构域)通用疫苗的疗效已经在小鼠等动物体内得到验证, 准备投入临床试验^[20]。

2.2 跨膜结构域不仅起锚定的作用

病毒融合蛋白通过其 C 端的跨膜区锚定在病毒包膜上。一些研究指出不同病毒融合蛋白的跨膜区序列是保守的^[21], 因此将一种病毒融合蛋白的跨膜区替换成另一种病毒融合蛋白的跨膜区不会影响其融合活性^[22]。但在此问题上尚存争议, 将新城鸡瘟病毒 (NDV) F 蛋白的跨膜区替换成其他病毒的跨膜区会破坏其融合活性^[23]。此外跨膜区的长度对于完全融合也是十分重要的, 截短的跨膜区会导致融合被阻断在半融合的中间态^[24]。虽然许多病毒融合蛋白的晶体结构已经得到解析, 但是一般情况下跨膜区并不在解析范围内。尽管缺少病毒融合蛋白跨膜区晶体结构的数据, 但是该区域的构象特征还是通过其他的物理学手段得到解析^[25-27]。与我们传统观念相悖, 越来越多的生化证据显示, 病毒融合蛋白的跨膜区并不仅仅起到锚定的作用, 而是通过扰乱生物膜脂质双层的拓扑结构在融合过程中发挥重要的活性作用^[26]。

有报道指出, 流感病毒 HA 的跨膜区自身就能起到提高脂质有序性的作用^[28], 并且与脂筏相关联^[29], 提示跨膜区的确能够参与膜脂双层的拓扑结构改变。有数据显示, 用糖磷脂酰肌醇

(glycosylphosphatidylinositol, GPI) 替代病毒融合蛋白的跨膜区会导致不完全融合, 即发生脂质交换但是内容物不交换, 也就是我们所说的半融合, 这也就提示跨膜区替换不会影响融合的起始但会干扰融合最终步骤的实现^[22, 30]。许多证据显示, 病毒融合蛋白的跨膜区存在核心的甘氨酸模体, GxxxG (x 为任意氨基酸) 和亮氨酸拉链样的亮氨酸 / 异亮氨酸残基排列结构, 这两种模体对于跨膜区之间的相互作用十分重要, 有助于维持融合前构象的稳定性并且在融合过程中发挥作用^[25]。

2.3 融合肽/环及其与靶膜和 TMD 的相互作用

在病毒入侵的过程中, 病毒融合蛋白发生剧烈的构象变化导致疏水性的融合肽 (FP) 或融合环 (FL) 暴露并插入到靶细胞膜中使脂质双分子层的结构变得不稳定, 推动融合过程的发生。通过对不同的融合肽和融合环的结构进行分析, 我们发现不同病毒融合蛋白的融合肽 / 环在融合后的构象变化很大。由于没有保守的构象特征, 一些研究人员认为融合肽 / 环作为第二个跨膜结构域起到锚定的作用^[31]。融合肽 / 环插入膜中的构象与靶膜的脂质组成以及融合肽 / 环的长度有关^[32]。

融合肽 / 环插入脂质双层后会通过氢键与磷脂发生相互作用, 这种多肽 - 脂质相互作用会导致脂质疏水尾部突出, 相关脂质变得不稳定, 脂质极性头部内陷, 其头部的内陷与多肽 N 端插入的深度和活性有关^[33]。通过将膜结构与融合肽一同组装的策略, Victor 等^[34]发现融合肽的插入能够有效降低脂双层的厚度以及有序性, 促进脂交换的发生。

此外目前研究人员还对融合肽 / 环与跨膜区之间的相互作用及其在融合过程中所发挥的功能进行探究^[31, 35-36]。融合肽 / 环与跨膜区在脂双层内形成的复合物会进一步打破脂分子排列的有序性, 降低完全融合的能量障。因此单独的融合肽 / 环或跨膜区, 都能通过其与相应病毒融合蛋白的跨膜区或融合肽 / 环之间的异源整合而阻断融合过程。

2.4 近膜结构域在融合过程中发挥作用

在病毒融合蛋白的胞外结构域和跨膜区之间存在一段短片段, 通常称为近膜结构域 (the juxtamembrane domain, JMD), 该结构域一般富含芳香族氨基酸。有证据表明在 I 型和 III 型病毒融合蛋白所介导的融合中近膜结构域会影响融合过程的发生^[8, 37-40]。在融合过程中, 近膜结构域会参与蛋白质构象变化并通过其与脂双层表面的相互作用降低脂双层的稳定性, 有利于融合的发生。因此近膜

结构域关键位点的缺失或替换都会显著影响融合活性^[37, 41], 并且近膜结构域类似物或靶向近膜结构域的单抗都能发挥阻断融合的作用^[42-45].

对近膜结构域的序列进行分析发现, 其一级结构富含芳香族氨基酸, 尤其是 Trp^[41, 46], 这种序列特异性对于包膜蛋白在病毒颗粒上的组装及其融合活性的发挥都极其重要^[37], 但是不同病毒融合蛋白近膜结构域中芳香族氨基酸的数量、空间排布位置以及功能都各不相同^[47]. Howard 等^[47]指出, 冠状病毒 S 蛋白的近膜结构域中有 6 个高度保守的芳香族氨基酸, 这些芳香族氨基酸对于其融合活性十分重要, 但是 VSV-G 蛋白的 W 残基与其融合能力无关, 而同样位于近膜结构域中的 GS 结构域对于融合功能更为重要^[39]. 同时, 先前研究也指出近膜结构域的长度和灵活性同样会影响融合活性^[48]. 最近的研究也揭示, 近膜结构域不仅能够自身聚合形成三聚体, 还能与融合肽结合形成一种高度有序的复合结构, 来促进脂质交换的发生, 而这些相互作用过程都依赖于富含 Trp 模体的作用^[41]. 除了 Trp 模体以外, HIV 的 gp41 近膜结构域中一个保守的螺旋-铰链-螺旋的模体对于其侵染能力同样具有重要作用^[49].

此外, 在融合过程中, 融合肽/环暴露而后插入靶膜中的过程导致产生了另一个近膜结构域, 即融合肽/环近侧区(fusion peptide proximal region, FPPR). 在融合的晚期, 病毒融合蛋白形成发卡样构象将对侧的两个脂双层膜拉近, 同时融合肽/环近侧区(FPPR)与质膜近侧区(membrane proximal external region, MPER, 也就是我们前面所提到的近膜结构域 JMD)相互靠近并发生相互作用. Buzon 等^[38]发现 FPPR 和 MPER 的相互结合能够使 gp41 的溶解温度提高并帮助其形成 6 螺旋束的结构. 此外 MPER 作为一个重要的抗原表位可以被多种中和抗体所识别^[50], 这也是其备受关注的原因之一.

虽然不同类型的病毒融合蛋白折叠的结构各不相同, 但是我们有理由相信它们的确是采用相似的方式介导融合过程的发生. 在特定的诱发因素下, 病毒融合蛋白会发生剧烈的构象变化, 引起融合肽/环的暴露并插入靶细胞膜中, 进而折叠形成发卡结构将两侧脂膜拉近, 并利用变构释放的能量诱发融合.

在融合起始时, 融合肽/环的插入将病毒锚定在宿主细胞膜上并打乱靶膜脂质分子的有序排列,

而在融合晚期通过其与跨膜区之间的相互作用促进融合.

在融合过程中起关键作用的是病毒融合蛋白胞外结构域中央的发卡三聚体结构域, 在多数病毒融合蛋白中该结构域中包含一个 6 螺旋束. 正如经典的囊泡融合原 SNARE 复合物所形成的 4 螺旋束一样, I 型病毒融合蛋白中的 6 螺旋束能够为其融合提供能量来打破融合过程中所遇到的能障.

同时, 病毒融合蛋白的跨膜区和近膜结构域这两个区域同样会对融合过程产生影响.

近年来, 人类免疫缺陷病毒(HIV)、重症急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)、中东呼吸综合征病毒(MERS-CoV)、流感病毒、埃博拉病毒(Ebola virus), 以及最近进入人们视线的寨卡病毒等包膜病毒的爆发给人类健康带来极大威胁, 这主要是由于包膜的存在让病毒逃逸于宿主免疫系统的识别. 因此人们投入了大量的精力研究病毒表面非宿主来源的病毒包膜蛋白, 而这其中介导病毒进入细胞的病毒融合蛋白最为关键. 虽然目前病毒融合蛋白主要的结构域在融合过程中的作用已经得到证实, 但是由于其结构的复杂性, 其介导融合的具体机制尚未得到完全阐明. 本文中我们主要着眼于病毒融合蛋白的结构, 详细阐述了不同结构域的特征及其在融合过程中发挥作用的机制. 这些融合关键结构域都可以作为我们进行抗病毒治疗研究的靶点, 供我们开发一些新的抗体、多肽以及其他小分子抑制剂作为抗病毒治疗的候选药物.

在 2016 年 3 月出版的《科学》(Science)中, 同期刊载了两篇有关 Ebola 病毒抗体的文章, Corti 等^[51]从一名 Ebola 病毒感染幸存者体内分离出两种单克隆抗体, 这两种抗体即是以病毒表面的包膜糖蛋白(glycoprotein, GP)作为攻击对象抵抗病毒入侵. Misasi 等^[52]对这两种抗体结合病毒糖蛋白的结构进行了解析, 发现 Mab100 识别三聚体的 GP, 并结合到组织蛋白酶切割环, 从而封闭了 GP 的酶切位点阻断其入侵细胞的过程, 而 mAb114 则与切割的 GP 表面糖链结合, 抑制其与受体结合而避免其侵入.

当前正在肆虐的寨卡病毒属于黄病毒属, 其包膜蛋白 E 为 II 型病毒融合蛋白(图 2), 其结构已经得到解析, 但是融合机制尚未完全阐明, 研究人员希望通过阻断病毒入侵抑制病毒感染. 目前仍有很多病毒包膜蛋白的结构和功能并未得到完全揭示, 俗话说知己知彼方能百战不殆, 这就需要对病毒融

合蛋白的作用机制进行更为全面和细致的解析。其次, 虽然目前已有研究工作以上述融合关键结构域作为治疗靶点来设计和研发新的抗病毒治疗药物, 但是真正具有实用性意义的药物仍为少数, 因此还需要进一步加强药物的研发工作。

参 考 文 献

- [1] Kozlov M M, Markin V S. Possible mechanism of membrane fusion. *Biofizika*, 1983, **28**(2): 242–247
- [2] Harrison S C. Viral membrane fusion. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, **15**(7): 690–698
- [3] White K M, De Jesus P, Chen Z, *et al.* A potent anti-influenza compound blocks fusion through Stabilization of the prefusion conformation of the hemagglutinin protein. *ACS Infect Dis*, 2015, **1**(2): 98–109
- [4] Baquero E, Albertini A A, Vachette P, *et al.* Intermediate conformations during viral fusion glycoprotein structural transition. *Curr Opin Virol*, 2013, **3**(2): 143–150
- [5] Lamb R A, Jardetzky T S. Structural basis of viral invasion: lessons from paramyxovirus F. *Curr Opin Struct Biol*, 2007, **17**(4): 427–436
- [6] Vaney M C, Rey F A. Class II enveloped viruses. *Cell Microbiol*, 2011, **13**(10): 1451–1459
- [7] Roche S, Rey F A, Gaudin Y, *et al.* Structure of the prefusion form of the vesicular stomatitis virus glycoprotein G. *Science*, 2007, **315**(5813): 843–848
- [8] Roche S, Bressanelli S, Rey F A, *et al.* Crystal structure of the low-pH form of the vesicular stomatitis virus glycoprotein G. *Science*, 2006, **313**(5784): 187–191
- [9] Albertini A A, Baquero E, Ferlin A, *et al.* Molecular and cellular aspects of rhabdovirus entry. *Viruses*, 2012, **4**(1): 117–139
- [10] Chan D C, Fass D, Berger J M, *et al.* Core structure of gp41 from the HIV envelope glycoprotein. *Cell*, 1997, **89**(2): 263–273
- [11] Weissenhorn W, Dessen A, Harrison S C, *et al.* Atomic structure of the ectodomain from HIV-1 gp41. *Nature*, 1997, **387**(6631): 426–430
- [12] Baker K A, Dutch R E, Lamb R A, *et al.* Structural basis for paramyxovirus-mediated membrane fusion. *Mol Cell*, 1999, **3**(3): 309–319
- [13] Eckert D M, Kim P S. Mechanisms of viral membrane fusion and its inhibition. *Annu Rev Biochem*, 2001, **70**: 777–810
- [14] Jiao J, Rebane A A, Ma L, *et al.* Kinetically coupled folding of a single HIV-1 glycoprotein 41 complex in viral membrane fusion and inhibition. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112**(22): E2855–2864
- [15] Gao Y, Zorman S, Gundersen G, *et al.* Single reconstituted neuronal SNARE complexes zipper in three distinct stages. *Science*, 2012, **337**(6100): 1340–1343
- [16] van den Bogaart G, Holt M G, Bunt G, *et al.* One SNARE complex is sufficient for membrane fusion. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, **17**(3): 358–364
- [17] Yang X, Kurteva S, Ren X, *et al.* Stoichiometry of envelope glycoprotein trimers in the entry of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol*, 2005, **79**(19): 12132–12147
- [18] Allen W J, Balias T E, Mukherjee S, *et al.* DOCK 6: Impact of new features and current docking performance. *J Comput Chem*, 2015, **36**(15): 1132–1156
- [19] Allen W J, Yi H A, Gochin M, *et al.* Small molecule inhibitors of HIVgp41 N-heptad repeat trimer formation. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, **25**(14): 2853–2859
- [20] Krammer F, Palese P. Universal influenza virus vaccines: need for clinical trials. *Nat Immunol*, 2014, **15**(1): 3–5
- [21] Schroth-Diez B, Ludwig K, Baljinnyam B, *et al.* The role of the transmembrane and of the intraviral domain of glycoproteins in membrane fusion of enveloped viruses. *Biosci Rep*, 2000, **20**(6): 571–595
- [22] Odell D, Wanas E, Yan J, *et al.* Influence of membrane anchoring and cytoplasmic domains on the fusogenic activity of vesicular stomatitis virus glycoprotein G. *J Virol*, 1997, **71**(10): 7996–8000
- [23] Gravel K A, McGinnes L W, Reitter J, *et al.* The transmembrane domain sequence affects the structure and function of the Newcastle disease virus fusion protein. *J Virol*, 2011, **85**(7): 3486–3497
- [24] Armstrong R T, Kushnir A S, White J M. The transmembrane domain of influenza hemagglutinin exhibits a stringent length requirement to support the hemifusion to fusion transition. *J Cell Biol*, 2000, **151**(2): 425–437
- [25] Smith E C, Culler M R, Hellman L M, *et al.* Beyond anchoring: the expanding role of the hendra virus fusion protein transmembrane domain in protein folding, stability, and function. *J Virol*, 2012, **86**(6): 3003–3013
- [26] Yao H, Lee M W, Waring A J, *et al.* Viral fusion protein transmembrane domain adopts beta-strand structure to facilitate membrane topological changes for virus-cell fusion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112**(35): 10926–10931
- [27] Lakomek N A, Kaufman J D, Stahl S J, *et al.* Internal dynamics of the homotrimeric HIV-1 viral coat protein gp41 on multiple time scales. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2013, **52**(14): 3911–3915
- [28] Ge M, Freed J H. Two conserved residues are important for inducing highly ordered membrane domains by the transmembrane domain of influenza hemagglutinin. *Biophys J*, 2011, **100**(1): 90–97
- [29] Simons K, Ikonen E. Functional rafts in cell membranes. *Nature*, 1997, **387**(6633): 569–572
- [30] Kemble G W, Danieli T, White J M. Lipid-anchored influenza hemagglutinin promotes hemifusion, not complete fusion. *Cell*, 1994, **76**(2): 383–391
- [31] Donald J E, Zhang Y, Fiorin G, *et al.* Transmembrane orientation and possible role of the fusogenic peptide from parainfluenza virus 5 (PIV5) in promoting fusion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(10): 3958–3963
- [32] Lai A L, Moorthy A E, Li Y, *et al.* Fusion activity of HIV gp41 fusion domain is related to its secondary structure and depth of membrane insertion in a cholesterol-dependent fashion. *J Mol Biol*, 2012, **418**(1–2): 3–15

- [33] Legare S, Lague P. The influenza fusion peptide promotes lipid polar head intrusion through hydrogen bonding with phosphates and N-terminal membrane insertion depth. *Proteins*, 2014, **82**(9): 2118–2127
- [34] Victor B L, Lousa D, Antunes J M, *et al.* Self-assembly molecular dynamics simulations shed light into the interaction of the influenza fusion Peptide with a membrane bilayer. *J Chem Inf Model*, 2015, **55**(4): 795–805
- [35] Reuven E M, Dadon Y, Viard M, *et al.* HIV-1 gp41 transmembrane domain interacts with the fusion peptide: implication in lipid mixing and inhibition of virus-cell fusion. *Biochemistry*, 2012, **51**(13): 2867–2878
- [36] Chang D K, Cheng S F, Kantchev E A, *et al.* Membrane interaction and structure of the transmembrane domain of influenza hemagglutinin and its fusion peptide complex. *BMC Biol*, 2008, **6**: 2
- [37] Salzwedel K, West J T, Hunter E. A conserved tryptophan-rich motif in the membrane-proximal region of the human immunodeficiency virus type 1 gp41 ectodomain is important for Env-mediated fusion and virus infectivity. *J Virol*, 1999, **73**(3): 2469–2480
- [38] Buzon V, Natrajan G, Schibli D, *et al.* Crystal structure of HIV-1 gp41 including both fusion peptide and membrane proximal external regions. *PLoS Pathog*, 2010, **6**(5): e1000880
- [39] Jeetendra E, Ghosh K, Odell D, *et al.* The membrane-proximal region of vesicular stomatitis virus glycoprotein G ectodomain is critical for fusion and virus infectivity. *J Virol*, 2003, **77**(23): 12807–12818
- [40] Moreno M R, Giudici M, Villalain J. The membranotropic regions of the endo and ecto domains of HIV gp41 envelope glycoprotein. *Biochim Biophys Acta*, 2006, **1758**(1): 111–123
- [41] Liao Y, Zhang S M, Neo T L, *et al.* Tryptophan-dependent membrane interaction and heteromerization with the internal fusion peptide by the membrane proximal external region of SARS-CoV spike protein. *Biochemistry*, 2015, **54**(9): 1819–1830
- [42] Purtscher M, Trkola A, Gruber G, *et al.* A broadly neutralizing human monoclonal antibody against gp41 of human immunodeficiency virus type 1. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 1994, **10**(12): 1651–1658
- [43] Lorizate M, Cruz A, Huarte N, *et al.* Recognition and blocking of HIV-1 gp41 pre-transmembrane sequence by monoclonal 4E10 antibody in a Raft-like membrane environment. *J Biol Chem*, 2006, **281**(51): 39598–39606
- [44] Reardon P N, Sage H, Dennison S M, *et al.* Structure of an HIV-1-neutralizing antibody target, the lipid-bound gp41 envelope membrane proximal region trimer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(4): 1391–1396
- [45] Zhang S M, Jejcic A, Tam J P, *et al.* Membrane-active sequences within gp41 membrane proximal external region (MPER) modulate MPER-containing peptidyl fusion inhibitor activity and the biosynthesis of HIV-1 structural proteins. *PLoS One*, 2015, **10**(7): e0134851
- [46] Suarez T, Gallaher W R, Agirre A, *et al.* Membrane interface-interacting sequences within the ectodomain of the human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein: putative role during viral fusion. *J Virol*, 2000, **74**(17): 8038–8047
- [47] Howard M W, Travanty E A, Jeffers S A, *et al.* Aromatic amino acids in the juxtamembrane domain of severe acute respiratory syndrome coronavirus spike glycoprotein are important for receptor-dependent virus entry and cell-cell fusion. *J Virol*, 2008, **82**(6): 2883–2894
- [48] Li Z N, Lee B J, Langley W A, *et al.* Length requirements for membrane fusion of influenza virus hemagglutinin peptide linkers to transmembrane or fusion peptide domains. *J Virol*, 2008, **82**(13): 6337–6348
- [49] Sun Z Y, Cheng Y, Kim M, *et al.* Disruption of helix-capping residues 671 and 674 reveals a role in HIV-1 entry for a specialized hinge segment of the membrane proximal external region of gp41. *J Mol Biol*, 2014, **426**(5): 1095–1108
- [50] Banerjee K, Weliky D P. Folded monomers and hexamers of the ectodomain of the HIV gp41 membrane fusion protein: potential roles in fusion and synergy between the fusion peptide, hairpin, and membrane-proximal external region. *Biochemistry*, 2014, **53**(46): 7184–7198
- [51] Corti D, Misasi J, Mulangu S, *et al.* Protective monotherapy against lethal Ebola virus infection by a potently neutralizing antibody. *Science*, 2016, **351**(6279): 1339–1342
- [52] Misasi J, Gilman M S, Kanekiyo M, *et al.* Structural and molecular basis for Ebola virus neutralization by protective human antibodies. *Science*, 2016, **351**(6279): 1343–1346

The Structure and Function of Viral Fusion Protein*

CI Ya-Li, XU Cai-Min, SHI Lei**

(State Key Laboratory of Medical Molecular Biology, Institute of Basic Medical Sciences,
Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100005, China)

Abstract There are three classes of viral fusion protein. Different types of viral fusion proteins usually have radically different architectures, whereas they share similar “hairpin” conformation during fusion processes. After triggering, a hydrophobic domain, fusion loop or fusion peptide insert into target membrane and the opposing membrane were brought closely with fusion protein folding and hairpin formation. With the energy from viral fusion protein conformational changes, the membranes were broken and fusion together. Here, we reviewed the characteristics of three classes viral fusion proteins and the functions of central trimer-of-hairpin domain, transmembrane domain and juxtamembrane domain in fusion process.

Key words viral fusion protein, membrane fusion, constructional changes

DOI: 10.16476/j.pibb.2016.0055

* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China(31470813).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-69156414, E-mail: shilei@ibms.pumc.edu.cn

Received: May 2, 2016 Accepted: August 25, 2016