

早幼粒白血病蛋白核体与病毒感染

王 滌^{1#} 郑雅宏^{1#} 雷 鸣^{1,2*}

(¹西北农林科技大学生命学院, 杨凌 712100; ²陕西省农业分子生物学重点实验室, 杨凌 712100)

摘要 早幼粒白血病蛋白核体(promyelocytic leukaemia nuclear bodies, PML-NBs)是哺乳动物细胞中普遍存在的一种动态的细胞核亚结构,参与DNA损伤与修复、细胞衰老与凋亡、基因表达调控以及肿瘤发生与抑制等多种重要的细胞活动。研究表明, PML-NBs也是多种病毒入侵细胞的作用靶点。PML-NBs通过介导细胞固有免疫反应或者作为细胞干扰素信号通路元件参与宿主细胞的抗病毒防御活动。该文以几种DNA和RNA病毒为例,综述了在病毒感染过程中PML-NBs与病毒的相互作用以及这些相互作用的功能意义,从而揭示PML-NBs在抵御病毒感染和免疫反应中的重要作用,并提出运用病毒单分子实时示踪(Single-virus Tracking)这一新技术深入研究PML-NBs在病毒感染中作用的可行性。

关键词 早幼粒白血病蛋白核体(PML-NBs); SUMO化修饰; 病毒感染; 病毒单分子示踪

早幼粒白血病蛋白核体(promyelocytic leukaemia nuclear bodies, PML-NBs)又称核斑、PML致瘤域(PODs)、核域10(ND10)或Kremer体,是哺乳动物细胞核内由多种蛋白聚集形成的直径为0.2~1.2 μm 的球形大分子结构^[1]。PML-NBs的数量和分布受细胞类型、细胞周期以及细胞所处状态影响而有所差别,通常每个细胞中约含10~20个PML-NBs^[2]。PML-NBs的组成型结构蛋白包括早幼粒细胞白血病蛋白(PML)、100 kDa斑点蛋白(Sp100)、死亡结构域结合蛋白(death domain-associated protein, Daxx)、小泛素相关修饰物1~3(SUMO-1~3)等^[1]。迄今已发现173种不同蛋白存在于PML-NBs中或与PML-NBs结合^[3-5]。在众多蛋白中, PML蛋白是维持PML-NBs完整和功能的关键组分, PML负责组装PML-NBs并募集PML-NBs的其他组分^[6-7]。在不含PML蛋白的细胞里PML-NBs不能形成,因为PML蛋白的丢失会引起PML-NBs其他组分的散失^[6-9]。研究表明, PML-NBs与基因转录调控、细胞周期、凋亡、细胞衰老以及抗病毒等多种细胞生命活动紧密相关^[10]。

1 PML-NBs的三维结构

通过免疫荧光检测发现, PML-NBs为具有环状外壳的球形结构^[11-12](图1),由PML蛋白形成环状的外壳,从而形成一个封闭的空间结构。然而受显微镜分辨率衍射极限的限制,即使结合电子显微镜研究,也很难提供精确的PML-NBs三维结构及其成分

的分布状况等超微结构信息。

近年来,随着仪器和检测方法的进步,特别是运用高分辨率的4Pi显微镜以及其他特殊电子显微镜进行观察研究,基本阐明了PML-NBs的三维结构。研究表明,在细胞有丝分裂间期时, PML蛋白之间通过自身的RBCC环指结构域进行相互结合。PML和Sp100蛋白再通过SUMO相互作用基序(SIM)与SUMO蛋白非共价作用,从而形成一个厚度为50~100 nm的环状纤维蛋白外壳^[12]。PML和Sp100蛋白分别在PML-NBs环状外壳的不同区域进行装配,其分布仅在PML-NBs环状外壳的局部区域上有所重叠^[12]。SUMO-1只定位于PML-Sp100形成的蛋白外壳上,而SUMO-2/3则定位于PML-NBs的内部,形成SUMO-2/3多聚链并向PML-NBs的内部突出,该多聚链很可能为PML-NBs内部一些具有SIM的功能性蛋白提供SUMO结合位点,从而达到锚定和富集这些功能性蛋白的作用^[12-13]。由PML-Sp100-SUMO相互作用形成的环状外壳构成一个相对封闭的空间,其中包含一些游离的蛋白、DNA和RNA聚合物以及特异的染色质亚区等,并允许一些相对较小的分子在PML-NBs内部与核基质之间相互扩散。而

收稿日期: 2012-03-06 接受日期: 2012-05-11

国家自然科学基金(No.61178084)和教育部新世纪优秀人才(No. NCET-08-0467)资助项目

*共同第一作者

*通讯作者。Tel: 029-87080160, E-mail: leiming70@hotmail.com

在细胞有丝分裂期时,由于去SUMO化作用,PML-NBs的环状外壳结构被破坏,只保留PML蛋白通过RBCC环指结构域形成的非特异聚合体。PML-NBs的上述这种装配方式与两性磷脂通过疏水作用形成脂质体或微团的过程相似(图2)。

2 PML-NBs与病毒感染

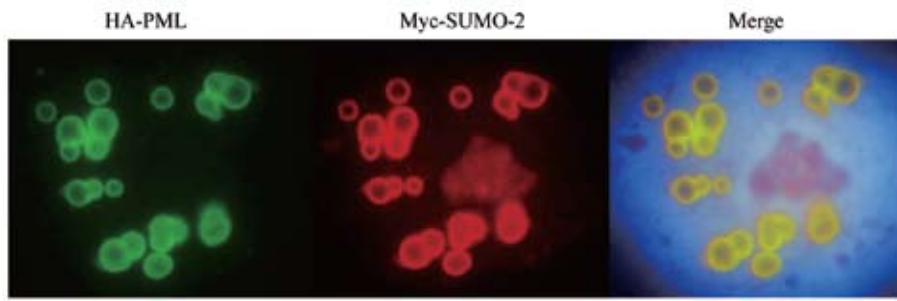
2.1 PML-NBs与多种病毒蛋白共定位或相互作用

研究发现,对病毒感染具有重要功能的一些病毒蛋白,如1型单纯疱疹病毒(HSV-1)的ICP0蛋白、EB病毒(EBV)的BZLF-1蛋白、人类乳头瘤病毒(HPV)的E6和E7蛋白等在病毒感染宿主细胞过程中都与

PML-NBs共定位。表1总结了部分已报道的与PML-NBs共定位或相互作用的病毒蛋白及其功能。

2.2 PML-NBs参与细胞抗病毒反应

由细胞内组成型表达蛋白所介导的固有免疫(innate immune)是机体非特异防御系统的一部分,在病毒入侵之前就已经存在并具有活性,能够诱导如干扰素(interferon, IFN)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)和白细胞介素(interleukin, IL)等一系列细胞因子的产生来促进机体的抗病毒效应。其中,IFN作为病毒诱导宿主细胞形成的一种细胞因子,在细胞生长、凋亡及免疫反应的调控中发挥关键作用。抗病毒是IFN最典型的功能,但它并不是直

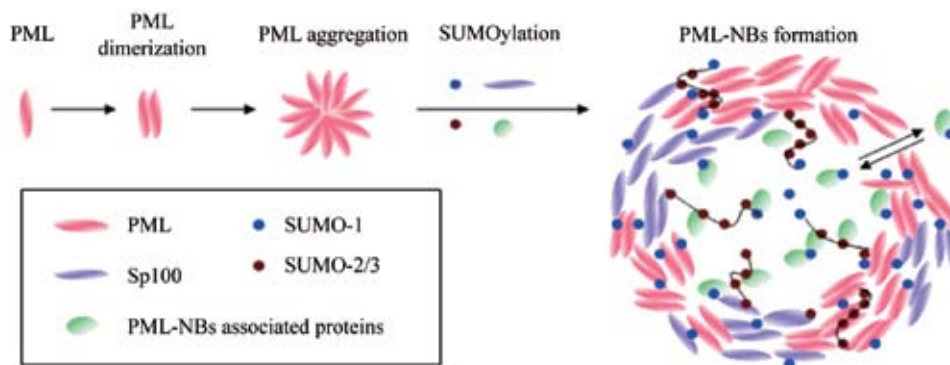


将HA-PML和Myc-SUMO-2质粒DNA共转染Hela细胞,转染48 h后收集细胞,制备细胞甩片,利用PML多抗和鼠Myc单抗抗体进行免疫荧光染色,再经DAPI染核后,于荧光显微镜下观察,可见PML蛋白聚集形成环状PML-NBs结构。

Hela cells were co-transfected with plasmids HA-PML and Myc-SUMO-2 for 48 hours and then collected to glass slides by cytospin. After immunofluorescent staining with rabbit anti-PML polyclonal antibodies and mouse anti-Myc monoclonal antibodies, followed by DAPI nuclear staining, the cells were observed under fluorescence microscope. As can be seen from the image, PML proteins assemble into a ring-like structure of PML-NBs.

图1 PML-NBs的环状结构

Fig.1 Ring-like shape of PML-NBs



PML-NBs是主要由PML蛋白形成的具有环状蛋白外壳的球形结构。PML蛋白之间首先通过自身的RBCC结构域相互结合形成二聚体,再经过非特异聚合形成多聚体,最后通过SUMO蛋白的修饰募集其他相关功能性蛋白从而形成完整的PML-NBs。

PML-NBs are spheres with a ring-like shell mainly composed of PML proteins. PML proteins first dimerize through their RBCC domains and then form unspecific aggregates. PML SUMOylation finally leads to the recruitment of other functional proteins and the formation of mature PML-NBs.

图2 PML-NBs三维结构形成示意图

Fig.2 The profile of PML-NBs 3D structure formation

表1 与PML-NBs共定位的一些病毒蛋白
Table 1 Virus proteins co-localized with PML-NBs

病毒名称 Viruses	与PML-NBs共定位病毒蛋白 Virus proteins co-localized with PML-NBs	功能举例 Function examples
HSV-1	ICP0, ICP4, ICP8, ICP27 UL5, UL8.5, UL9, UL14, UL30, UL52, US10	ICP0, a kind of ubiquitin E3 ligase, is a multifunctional regulatory protein that regulates the expression of HSV-1 genome and activates the transcription of the viral late genes, etc
EBV	BDLF1, BLLF2, BRLF1, BFLF2, BKRF4, BZLF1 EBNA-1, EBNA-3, EBNA-5(-LP), EBNA3B	BZLF1 is a key transcription factor of EBV that transforming the virus from latent state to replicated state
HPV	E1, E2, E4, E6, E7, L1, L2	E6 and E7 are vital oncoproteins of HPV, which are responsible for inactivating the major tumor suppressors of its host cells, p53 and pRb, respectively

接杀伤或抑制病毒, 而是首先识别细胞表面的IFN受体, 再经过信号转导等一系列生理过程激活细胞表达多种抗病毒蛋白, 降解病毒mRNA、抑制病毒多肽链表达以及阻碍病毒复制, 而IFN通过各种信号通路抑制病毒感染的功能都是通过被其激活表达的细胞蛋白所介导的。

众所周知, 病毒的复制依赖于宿主细胞核的许多成分, 而细胞的亚核结构在大多数病毒的感染中起调控作用。作为一种重要的亚核结构, PML-NBs参与细胞对抗病毒入侵的固有免疫反应或IFN介导的细胞抗病毒反应。PML-NBs能够迅速捕获入侵病毒。PML、Sp100蛋白等PML-NBs的主要组成蛋白都能独立地使病毒基因表达沉默, 这些研究发现说明, PML-NBs在细胞固有的抗病毒防御机制中具有重要作用^[9,14]。PML和Sp100蛋白这两种PML-NBs的主要成分的表达虽然不依赖于IFN的存在, 但是I型干扰素(IFN- α - β)和II型干扰素(IFN- γ)能够直接使这两种蛋白的表达上调。

进一步研究发现, 在PML和Sp100蛋白基因启动子上存在干扰素激活应答元件(IFN-stimulated response elements, ISRE)和干扰素 γ 激活位点(gamma-activated site, GAS)^[14]。IFN能够通过结合到应答元件诱导包括PML和Sp100在内的许多PML-NBs蛋白的表达^[15-16], 从而增加细胞中PML-NBs的数量、大小和完整性^[16]。在I型单纯疱疹病毒(HSV-1)中, 敲除了其重要调控蛋白ICP0的HSV-1突变体在PML(-/-)鼠成纤维细胞(MEF)中的复制与其在PML(+/-)MEF细胞中相比没有明显差别, 但是该HSV-1突变体在经过干扰素处理的PML(+/-)MEF细胞中的复制明显被阻碍^[17], 这表明PML对于HSV-1基因表达的抑制是必需的, 而不含ICP0的HSV-1突变体不能破坏宿主PML-NBs的抗病毒功能, 因此对IFN高度

敏感。这些研究表明, PML-NBs参与IFN介导的细胞抗病毒反应并发挥重要作用, 而病毒则能够产生多肽破坏PML-NBs的完整性, 以此逃避PML-NBs的抗病毒作用, 提高病毒感染效率^[14]。

2.3 病毒对宿主细胞PML-NBs的作用

2.3.1 DNA病毒 (1)I型单纯疱疹病毒(HSV-1): HSV-1是一种 α 亚型疱疹病毒, 属于有包膜的DNA病毒, 主要引起皮肤性疱疹、角膜炎、脑炎等疾病。HSV-1的生活史包括裂解性感染阶段和潜伏感染阶段。HSV-1是第一种被发现感染过程中影响PML-NBs形态的病毒。HSV-1能导致PML-NBs快速降解, 但敲除ICP0的HSV-1缺失突变体则丧失这一功能^[17], 这表明ICP0在HSV-1引起的PML-NBs降解中具有重要作用。ICP0是HSV-1表达的一种前早期蛋白, 具有一个完整的环指基序。作为一种泛素E3连接酶, ICP0能在感染早期与宿主细胞的PML-NBs精确共定位, 诱导SUMO-1修饰的PML和Sp100降解, 从而导致PML-NBs的解体。这可能与ICP0诱导HSV-1的裂解性感染以及由潜伏或休眠状态再激活的功能相关^[18-21]。通过HSV-1的ICP0突变病毒感染研究和延时显微镜研究证明, 病毒复制区室(replication compartments)的形成起始于PML-NBs的外围区域^[22]。与PML-NBs相结合的HSV-1亲代DNA复制的可能性大大增加^[23], 表明PML-NBs是病毒活性转录中心形成的优先位点。病毒DNA不论在裂解感染期还是潜伏感染期都与PML-NBs紧密联系^[24], 包括入侵宿主细胞的HSV-1基因组以及ICP4、ICP27、包膜蛋白VP13/14和VP22等几种病毒调节蛋白在内的这些参与病毒转录、功能活跃的病毒核蛋白复合体都与PML-NBs共定位, 这很可能是宿主细胞识别外来核蛋白复合体的动态结果^[25-28]。

(2)EB病毒(EBV): EB病毒又称人类4型疱疹病

毒(HHV-4), 是Epstein和Barr^[29]于1964年在Burkitt淋巴瘤标本的体外传代细胞中发现的, 被命名为Epstein-Barr病毒(EBV)。成熟EB病毒分子为有包膜、直径为150~180 nm的球形, 它与鼻咽癌等多种肿瘤的发病和进展有密切关系^[30]。与HSV-1相似, EB病毒复制中心的建立也起始于宿主细胞的PML-NBs, 复制中其基因组与PML-NBs紧邻。EB病毒裂解期被激活时则导致PML-NBs的解体以及病毒DNA在PML-NBs的空间再分布^[31]。由于EB病毒裂解期重要调节因子BZLF-1也是SUMO修饰的底物, 能够与PML竞争有限的SUMO-1蛋白, 通过减少PML-NBs的SUMO化从而诱导其降解^[32]。EB病毒潜伏期表达的调节蛋白EBNA-LP(EBNA5)也能够修饰PML-NBs, EBNA-LP与PML-NBs的Sp100蛋白结合后共同诱导EB病毒另一种重要调节蛋白EBNA2的激活, 使EBNA2有选择地取代了Sp100和HP1 α 这两种定位于PML-NBs的蛋白。由于Sp100和HP1 α 都是具有转录抑制活性的蛋白^[33-34], 当Sp100发生突变而不能与PML-NBs结合时, 即使不存在EBNA-LP也能使EBNA2被激活^[35], 这表明EBNA-LP诱导的PML-NBs重组很可能解除了宿主细胞对EB病毒潜伏期调节蛋白基因的转录阻抑。

(3)人类乳头瘤病毒(HPV): HPV是无包膜、双链闭环小DNA病毒, 是宫颈癌的主要致病因子。E6和E7是HPV编码的主要癌蛋白, 分别负责降解p53和使pRb失活, 阻遏这两种重要抑癌基因对细胞增殖的负调控, 诱发细胞恶性转化。研究表明, 早期乳头瘤蛋白E6和E7也与PML-NBs有密切联系。低致病性HPV11表达的E6和E7蛋白与PML-NBs共定位, 但是高致病性HPV16或HPV18的E6和E7蛋白遍布于整个宿主细胞核, 不与PML-NBs共定位^[36]。通常情况下, PML蛋白能同时激活p53和pRb肿瘤抑制途径以确保异常细胞彻底脱离细胞周期, 但是, 高致病性HPV的E6蛋白能够依赖蛋白酶体途径特异地降解PML IV以阻碍由PML蛋白介导的细胞衰老^[37], 而E7蛋白则能通过直接的相互作用破坏p53、pRb以及PML蛋白的功能从而抑制PML IV诱导的细胞衰老作用^[38]。由此推断, 不同类型HPV中的E6和E7蛋白与宿主细胞PML-NBs的作用方式显著不同, 这很可能是引起HPV病毒致癌性和致病性差异的一种重要原因。

2.3.2 逆转录病毒 逆转录病毒是一种RNA病

毒, 它的特点是RNA基因组首先反转录成DNA, 然后再整合进宿主染色体。研究表明, 以下不同家族的三种逆转录病毒感染周期都与PML-NBs有关。

1型人类T细胞白血病病毒(HTLV-1)编码的肿瘤蛋白Tax是一种转录激活子, 能直接与定位于PML-NBs的Int-6蛋白直接相互作用, 改变Int-6的亚细胞定位, 诱导Int-6从PML-NBs转移到细胞质中, 但不影响PML蛋白的定位^[39], 这表明Tax具有调整PML-NBs组分的功能。另外, Tax也是类固醇和维甲酸受体转录的高效抑制子, 但它的抑制效应可以被PML蛋白过量表达消除^[40]。

有研究报道, 外源表达的PML III能使人类泡沫病毒(HFV)的mRNA表达水平显著减少, 其成因可能是PML诱导病毒反式作用因子Tas形成复合体, 阻碍Tas和病毒启动子结合从而抑制病毒基因的表达^[41]。在野生型鼠胚成纤维细胞(MEF)中, HFV的复制和病毒蛋白的表达能够被IFN处理所抑制, 但是在PML(-/-)的MEF细胞中IFN对HFV的感染则没有明显影响, 这进一步表明PML-NBs对HFV具有抗病毒作用。

此外, 对于1型人类免疫缺陷病毒(HIV-1), 其感染时所形成的前整合复合体会引起PML-NBs的结构蛋白PML被转移到细胞质中, 从而影响PML-NBs的形态^[42]。

3 活细胞病毒单分子实时成像技术的应用

PML-NBs作为一种重要细胞核亚结构, 是多种病毒的作用靶点, 但受亚核结构大小、动态变化以及光学显微镜分辨率等因素限制, 目前国内外研究尚未揭示PML-NBs与病毒相互作用的确切分子机制。光学分子成像技术具有多分子事件并行检测能力及高时空分辨能力, 已经成为复杂生物体中综合研究各种亚细胞结构功能极具前景的研究手段之一。庄晓薇领导的研究小组^[43]新开发了一个病毒单分子示踪(Single-virus Tracking)系统, 该系统可以实时跟踪病毒单分子在活细胞中的运动轨迹、检测病毒与细胞结构之间的动态相互作用。与其他光学分子成像系统相比, 该系统在活细胞超分辨率多色成像方面有了很大提高, 并在国际上首次成功拍摄到一个流感病毒分子入侵细胞的过程。该系统的发明使得揭示病毒感染过程每个步骤具体的分子机制成为可能。

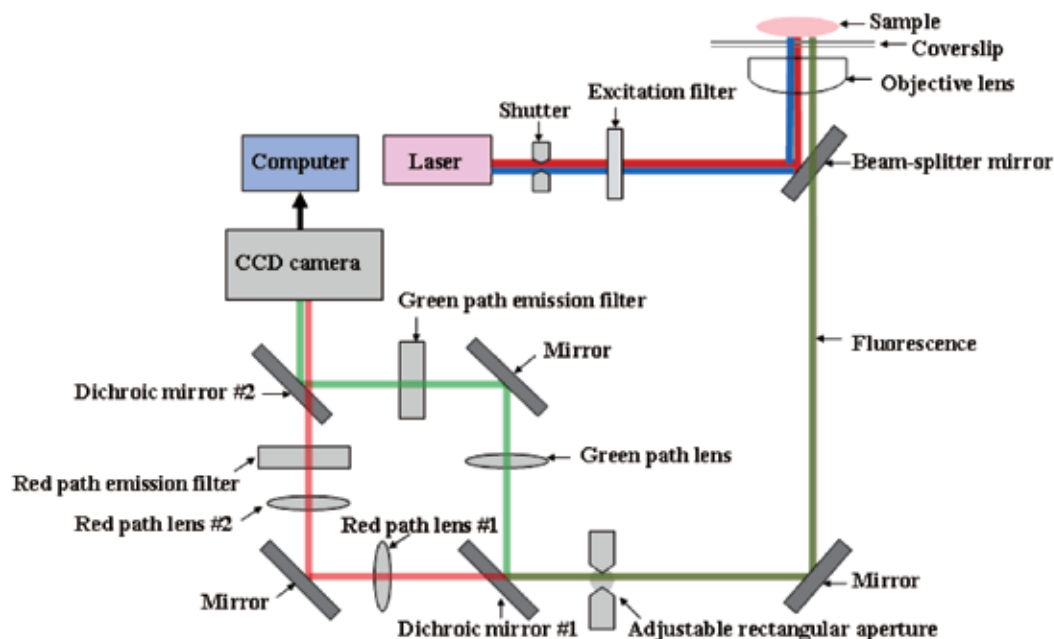


图3 病毒单分子示踪双色成像系统示意图

Fig.3 Schematic of two-color Single-virus Tracking imaging system

病毒单分子示踪系统由激光器、显微镜、检测系统等一系列尖端成像仪器组成(图3),能够针对活细胞病毒单分子成像及观测的不同要求,利用激光器调整不同波长荧光团的激发,选用落射(epi-)、共聚焦(confocal-)或全内反射(TIRF)荧光显微镜装置进行成像,再通过配备的能够自动旋转的滤光转盘以及高性能的快帧频CCD,可以同时进行双色或多色荧光的多通道实时检测^[42]。结合单分子示踪算法,将不同通道的原始荧光图像经过校准后叠加在一起便形成多色荧光图像。再将原始图像中帧与帧之间确定的每个单独荧光峰进行比对,就可以获得表明病毒单分子三维坐标值与荧光强度的轨迹线。

基于上述特点,将病毒单分子示踪系统应用于研究PML-NBs与病毒分子的相互作用具有可行性。首先需要对病毒包膜蛋白或非包膜病毒的衣壳蛋白用合适的荧光探针(例如GE Healthcare公司的Cy染料、Invitrogen公司的Alexa Fluor染料或GFP及其异构体)进行标记,再通过基因融合的办法用一种或多种颜色的荧光蛋白(例如GFP、CFP、YFP等)标记PML-NBs各种组分,就可以将病毒单分子示踪系统与荧光淬灭恢复(FRAP)、荧光共振能量转移(FRET)等多种技术联合应用,在活细胞内全程跟踪病毒单分子感染细胞的三维动态过程,从而具体分析病毒

与PML-NBs的相互作用的分子机制,这将为进一步揭示PML-NBs在细胞抗病毒中的确切功能提供研究依据。

4 展望

虽然,对于PML-NBs在病毒复制中的功能作用目前仍存在争议,但是PML-NBs已被证实是来自不同病毒家族的多种DNA和RNA病毒的作用靶点,大部分病毒复制都与PML-NBs相联系。PML、Sp100等PML-NBs主要结构蛋白基本构成细胞抗病毒的宿主因子,缺乏任何一种都会增强病毒的感染性。而病毒能够表达一些调节蛋白来抑制PML-NBs的某种成分或扰乱整个PML-NBs结构完整性,从而对抗PML-NBs的抗病毒功能。

对于PML-NBs与病毒的相互作用,未来需要进一步揭示PML-NBs抗病毒功能的深层分子机制。病毒单分子示踪等先进的新型研究技术的出现为PML-NBs与病毒互作研究提供了新的研究手段。

参考文献 (References)

- 1 Negorev D, Maul GG. Cellular proteins localized at and interacting within ND10/PML nuclear bodies/PODs suggest functions of a nuclear depot. *Oncogene* 2001; 20(49): 7234-42.
- 2 Dyck JA, Maul GG, Miller WH Jr, Chen JD, Kakizuka A, Evans

- RM. A novel macromolecular structure is a target of the promyelocyte-retinoic acid receptor oncoprotein. *Cell* 1994; 76(2): 333-43.
- 3 Kiesslich A, von Mikecz A, Hemmerich P. Cell cycle-dependent association of PML bodies with sites of active transcription in nuclei of mammalian cells. *J Struct Biol* 2002; 140(1/2/3): 167-79.
- 4 Brand P, Lenser T, Hemmerich P. Assembly dynamics of PML nuclear bodies in living cells. *PMC Biophys* 2010; 3(1): 3.
- 5 Van Damme E, van Ostade X. Crosstalk between viruses and PML nuclear bodies: A network-based approach. *Front Biosci* 2011; 17: 2910-20.
- 6 Ishov AM, Sotnikov AG, Negorev D, Vladimirova OV, Neff N, Kamitani T, *et al*. PML is critical for ND10 formation and recruits the PML-interacting protein Daxx to this nuclear structure when modified by SUMO-1. *J Cell Biol* 1999; 147(2): 221-33.
- 7 Everett RD, Rechter S, Papior P, Tavalai N, Stamminger T, Orr A. PML contributes to a cellular mechanism of repression of herpes simplex virus type 1 infection that is inactivated by ICP0. *J Virol* 2006; 80(16): 7995-8005.
- 8 Tavalai N, Papior P, Rechter S, Leis M, Stamminger T. Evidence for a role of the cellular ND10 protein PML in mediating intrinsic immunity against human cytomegalovirus infections. *J Virol* 2006; 80(16): 8006-18.
- 9 Regad T, Chelbi-Alix MK. Role and fate of PML nuclear bodies in response to interferon and viral infections. *Oncogene* 2001; 20(49): 7274-86.
- 10 Eskiw CH, Dellaire G, Bazett-Jones DP. Chromatin contributes to structural integrity of promyelocytic leukemia bodies through a SUMO-1 independent mechanism. *J Biol Chem* 2004; 279(10): 9577-85.
- 11 Bernardi R, Pandolfi PP. Structure, dynamics and functions of promyelocytic leukaemia nuclear bodies. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(12): 1006-16.
- 12 Lang M, Jegou T, Chung I, Richter K, Münch S, Udvarhelyi A, *et al*. Three-dimensional organization of promyelocytic leukemia nuclear bodies. *J Cell Sci* 2010; 123(Pt 3): 392-400.
- 13 Zhong S, Müller S, Ronchetti S, Freemont PS, Dejean A, Pandolfi PP. Role of SUMO-1-modified PML in nuclear body formation. *Blood* 2000; 95(9): 2748-52.
- 14 Everett RD, Chelbi-Alix MK. PML and PML nuclear bodies: Implications in antiviral defence. *Biochimie* 2007; 89(6/7): 819-30.
- 15 Chelbi-Alix MK, Pelicano L, Quignon F, Koken MH, Venturini L, Stadler M, *et al*. Induction of the PML protein by interferons in normal and APL cells. *Leukemia* 1995; 9(12): 2027-33.
- 16 Grötzinger T, Sternsdorf T, Jensen K, Will H. Interferon-modulated expression of genes encoding the nuclear-dot-associated proteins Sp100 and promyelocytic leukemia protein (PML). *Eur J Biochem* 1996; 238(2): 554-60.
- 17 Maul GG, Guldner HH, Spivack JG. Modification of discrete nuclear domains induced by herpes simplex virus type 1 immediate early gene 1 product (ICP0). *J Gen Virol* 1993; 74(Pt 12): 2679-90.
- 18 Everett RD. ICP0, a regulator of herpes simplex virus during lytic and latent infection. *Bioessays* 2000; 22(8): 761-70.
- 19 Chelbi-Alix MK, de Thé H. Herpes virus induced proteasome-dependent degradation of the nuclear bodies-associated PML and Sp100 proteins. *Oncogene* 1999; 18(4): 935-41.
- 20 Müller S, Dejean A. Viral immediate-early proteins abrogate the modification by SUMO-1 of PML and Sp100 proteins, correlating with nuclear body disruption. *J Virol* 1999; 73(6): 5137-43.
- 21 Boutell C, Sadis S, Everett RD. Herpes simplex virus type 1 immediate-early protein ICP0 and its isolated RING finger domain act as ubiquitin E3 ligases *in vitro*. *J Virol* 2002; 76(2): 841-50.
- 22 Maul GG, Ishov AM, Everett RD. Nuclear domain 10 as pre-existing potential replication start sites of herpes simplex virus type-1. *Virology* 1996; 217(1): 67-75.
- 23 Sourvinos G, Everett RD. Visualization of parental HSV-1 genomes and replication compartments in association with ND10 in live infected cells. *EMBO J* 2002; 21(18): 4989-97.
- 24 Everett RD, Murray J, Orr A, Preston CM. Herpes simplex virus type 1 genomes are associated with ND10 nuclear substructures in quiescently infected human fibroblasts. *J Virol* 2007; 81(20): 10991-1004.
- 25 Hutchinson I, Whiteley A, Browne H, Elliott G. Sequential localization of two herpes simplex virus tegument proteins to punctuate nuclear dots adjacent to ICP0 domains. *J Virol* 2002; 76(20): 10365-73.
- 26 Everett RD, Sourvinos G, Orr A. Recruitment of herpes simplex virus type 1 transcriptional regulatory protein ICP4 into foci juxtaposed to ND10 in live, infected cells. *J Virol* 2003; 77(6): 3680-9.
- 27 Everett RD, Sourvinos G, Leiper C, Clements JB, Orr A. Formation of nuclear foci of the herpes simplex virus type 1 regulatory protein ICP4 at early times of infection: Localization, dynamics, recruitment of ICP27, and evidence for the de novo induction of ND10-like complexes. *J Virol* 2004; 78(4): 1903-17.
- 28 Everett RD, Murray J. ND10 components relocate to sites associated with herpes simplex virus type 1 nucleoprotein complexes during virus infection. *J Virol* 2005; 79(8): 5078-89.
- 29 Epstein MA, Barr YM. A second virus-carrying tissue culture strain (EB2) of lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Pathol Biol (Paris)* 1964; 12: 1233-4.
- 30 Shah KM, Young LS. Epstein-Barr virus and carcinogenesis: Beyond Burkitt's lymphoma. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15(11): 982-8.
- 31 Bell P, Lieberman PM, Maul GG. Lytic but not latent replication of Epstein-Barr virus is associated with PML and induces sequential release of nuclear domain 10 proteins. *J Virol* 2000; 74(24): 11800-10.
- 32 Adamson AL, Kenney S. Epstein-Barr virus immediate-early protein BZLF1 is SUMO-1 modified and disrupts promyelocytic leukemia bodies. *J Virol* 2001; 75(5): 2388-99.
- 33 Seeler JS, Marchio A, Losson R, Desterro JM, Hay RT, Chambon P, *et al*. Common properties of nuclear body protein Sp100 and TIF1alpha chromatin factor: Role of SUMO modification. *Mol Cell Biol* 2001; 21(10): 3314-24.
- 34 Lehming N, Le Saux A, Schüller J, Ptashne M. Chromatin components as part of a putative transcriptional repressing complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(13): 7322-6.
- 35 Ling PD, Peng RS, Nakajima A, Yu JH, Tan J, Moses SM, *et al*. Mediation of Epstein-Barr virus EBNA-LP transcriptional coactivation by Sp100. *EMBO J* 2005; 24(20): 3565-75.
- 36 Guccione E, Massimi P, Bernat A, Banks L. Comparative analysis of the intracellular location of the high- and low-risk human

- papillomavirus oncoproteins. *Virology* 2002; 293(1): 20-5.
- 37 Guccione E, Lethbridge KJ, Killick N, Leppard KN, Banks L. HPV E6 proteins interact with specific PML isoforms and allow distinctions to be made between different POD structures. *Oncogene* 2004; 23(27): 4662-72.
- 38 Bischof O, Nacerddine K, Dejean A. Human papillomavirus oncoprotein E7 targets the promyelocytic leukemia protein and circumvents cellular senescence via the Rb and p53 tumor suppressor pathways. *Mol Cell Biol* 2005; 25(3): 1013-24.
- 39 Desbois C, Rousset R, Bantignies F, Jalinet P. Exclusion of Int-6 from PML nuclear bodies by binding to the HTLV-1 Tax oncoprotein. *Science* 1996; 273(5277): 951-3.
- 40 Doucas V, Evans RM. Human T-cell leukemia retrovirus-Tax protein is a repressor of nuclear receptor signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96(6): 2633-8.
- 41 Regad T, Saib A, Lallemand-Breitenbach V, Pandolfi PP, de Thé H, Chelbi-Alix MK. PML mediates the interferon-induced antiviral state against a complex retrovirus via its association with the viral transactivator. *EMBO J* 2001; 20(13): 3495-505.
- 42 Turelli P, Doucas V, Craig E, Mangeat B, Klages N, Evans R, *et al.* Cytoplasmic recruitment of INI 1 and PML on Incoming HIV preintegration complexes: Interference with early steps of viral replication. *Mol Cell* 2001; 7(6): 1245-54.
- 43 Rust MJ, Lakadamyali M, Brandenburg B, Zhuang X. Single-virus tracking in live cells. *Cold Spring Harb Protoc* 2011; doi: 10.1101/pdb.top065623.

Promyelocytic Leukaemia Nuclear Bodies and Viral Infection

Wang Di^{1#}, Zheng Yahong^{1#}, Lei Ming^{1,2*}

¹College of Life Sciences, Northwest N&F University, Yangling 712100, China;

²Key Laboratory of Agricultural Molecule Biology, Yangling 712100, China)

Abstract Promyelocytic leukaemia nuclear bodies (PML-NBs) are a kind of dynamic nuclear substructures in mammalian cells. PML-NBs have been demonstrated to participate in many important cellular activities, including DNA damage repair, senescence, apoptosis, gene expression, tumorigenesis and tumor suppression. Increasing evidences prove that PML-NBs are the targets of various viruses in infection. PML-NBs are involved in host antiviral defenses through mediating an intrinsic immune response against specific viruses or serving as the components of the cellular interferon pathway. In this review, taking several DNA and RNA viruses as examples, we summarize the interplay of PML-NBs with different viruses in infection to reveal the important roles of PML-NBs in antiviral defenses and cellular immune responses. Meanwhile, we propose that it will be helpful to study the functions of PML-NBs in viral infection using a new technological method named Single-virus Tracking.

Key words PML-NBs; SUMOylation; viral infection; Single-virus Tracking

Received: March 6, 2012 Accepted: May 11, 2012

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.61178084) and the Program for New Century Excellent Talents of Ministry of Education (No.NCET-08-0467)

[#]These authors contribute equally to this work

*Corresponding author. Tel: 86-29-87080160, E-mail: leiming70@hotmail.com