

一种新的抗病毒分子 HIRRP 的相互作用蛋白筛选、验证及生物学功能分析

吴练秋 唐松青 廖 芸 张 莹 陈 婕 李 薇 董承红 刘龙丁 李琦涵*

(北京协和医学院, 中国医学科学院, 医学生物学研究所, 昆明 650118)

摘要 单纯疱疹病毒 1 型感染相关抑制蛋白(HSV-1 infection related repress protein, HIRRP)是一个结构和功能仍未知的蛋白。我们前期的工作发现 HIRRP 能在病毒感染的细胞内高表达, 表明 HIRRP 可能在细胞内参与了抗病毒感染这一重要的生物学事件。然而, HIRRP 在细胞内参与抗病毒感染的具体作用机理仍不清楚。为此, 我们以 HIRRP 为诱饵构建了 pGBKT7-HIRRP 载体, 用酵母双杂交技术从人肝细胞 cDNA 文库中筛选出了玻连蛋白(Vitronectin, VTN), 并通过体内免疫共沉淀和双荧光共定位实验, 以及体外的促细胞增殖实验和病毒入胞干预实验, 证实了 HIRRP 和 VTN 之间存在着相互作用。初步的功能分析显示, 两者的相互作用, 具有协同促进细胞抗病毒的效应。由此, 我们得出结论, HIRRP 和 VTN 在细胞内能发生相互作用, 并猜测这种作用与细胞的抗病毒感染活动相关。

关键词 酵母双杂交; 单纯疱疹病毒 1 型感染相关抑制蛋白; 玻连蛋白

单纯疱疹病毒 1 型感染相关抑制蛋白(HSV-1 infection related repress protein, HIRRP) (Accession No. BAB71400)最早由日本科学家通过对人的 cDNA 测序而鉴别到^[1]。HIRRP 包含 209 个氨基酸残基, 理论预测相对分子质量约 24.6kDa, 理论等电点为 7.94。目前, 还没有任何有关该蛋白结构和功能的文献报道。我们前期的工作使用二维电泳检测到 HIRRP 在 HSV-1 感染的 L02 细胞内表达量增高; 通过 Northern blot 实验发现 HIRRP mRNA 在细胞周期 G₀、G₁ 期和 S 期均有表达, 且各阶段中 mRNA 表达量无明显差异; 并且我们的工作细胞、分子、调控等水平也均证实 HIRRP 可能是一种之前尚未被发现的抗病毒蛋白, 因此, 我们实验室首次发现了 HIRRP 分子的这种重要的生物学功能。但是关于 HIRRP 在病毒感染的细胞内怎样发挥抗病毒作用的具体机制还不明确, 于是我们从人肝细胞 cDNA 文库中筛选与 HIRRP 相互作用的蛋白, 希望能为深入研究 HIRRP 参与的细胞抗病毒机制提供一些新的线索。

1 材料与方法

1.1 材料

Vero、CHO、L02 细胞、大肠杆菌 Top10 和 BL21、载体 pcDNA3.1、pEGFP-N2、pGEX-5X-1、pDsRed-C1、病毒 HSV-1 等均为实验室自存; 酵母

菌 AH109 和 Y187、质粒 pGBKT7、pGBKT7-P53、pGBKT7-Lam、pGADT7、pGADT7-T、人肝细胞 cDNA 文库等均购自 Clontech 公司; 各种限制性内切酶、T4DNA 连接酶、Taq 酶、蛋白和核酸 Marker、TRIzol、酵母用培养基等均购自 TaKaRa 公司; 聚乙二醇 4000、ONPG 购自鼎国生物技术有限责任公司; RIPA 裂解缓冲液购自 Applygen 公司; Bradford 法蛋白定量试剂盒、IPTG、DNA 多功能回收试剂盒购自 Biotek 公司; 化学发光检测试剂 (ECL)、质粒小提、中提试剂盒购自 Tiangen 公司; LipofectAmine 2000 购自 Invitrogen 公司; Glutathione 树脂购自国家生化工程技术研究中心; Anti-VTN MAb 购自 Epitomics 公司; MTT 购自 Biosharp 公司。

1.2 方法

1.2.1 HIRRP 基因片段扩增及 pGBKT7-HIRRP 载体构建 HSV-1 刺激 L02 细胞 24 h 后, 用 TRIzol 方法提取 L02 细胞总 RNA, 电泳确定无降解, 取 0.5~1 μg 总 RNA 为逆转录模板, 逆转录合成 cDNA 第一链。以 5'-CCG GAA TTC ATG GAG CGG CTC CG-3' 和 5'-GCG TCG ACA GCC TGC TCT CAG CTT-3' 为上下游引物、新合成的 cDNA 第一链为模板, 55°C 退

火, PCR 反应 30 个循环, 扩增出 HIRRP 全长片段, 经 *EcoR* I 和 *Sal* I 双酶切后连入 pGBKT7 载体。

1.2.2 诱饵蛋白细胞毒性和自激活活性检测 用标准 PEG/LiAc 方法共转 pGADT7-T 及重组子 pGBKT7-HIRRP 至酵母菌 AH109 中, 均匀涂布于 DDO(SD/-Trp/-Leu) 和 QDO(SD/-His/-Trp/-Ade/-Leu) 平板, 30°C 培养 3~5 d, 通过观察酵母克隆是否生长及克隆大小, 判断细胞毒性及自激活活性(阴性对照; 共转 pGBKT7-Lam 和 pGADT7-T, 阳性对照; 共转 pGBKT7-53 和 pGADT7-T)。

1.2.3 相互作用蛋白的筛选 将质粒 pGBKT7-HIRRP 转到 AH109 菌株中, 根据 Clontech 公司预制 cDNA 文库说明书操作, 使之与预制的含人肝细胞 cDNA 文库的 Y187 酵母菌融合, 并接种于 45 ml 2×YPDA/Kan 液体培养基中, 30°C、50 r/min 培养 20 h, 离心后菌体用 50 ml 0.5×YPDA/Kan 清洗两次后, 重悬于 10 ml 0.5×YPDA/Kan 液体培养基中, 按每板 200 μl 涂布于 TDO(SD/-His-Leu-Trp) 平板上, 30°C 培养, 待克隆长出来后, 将单克隆转移到 QDO 平板上, 30°C 培养 3~8 d。

1.2.4 测序及生物信息学分析 将 QDO 平板上生长良好的克隆提质粒后转入大肠杆菌 Top10 中, 转化产物涂布于氨苄抗性平板, 37°C 过夜培养。次日挑取单克隆接种于 3 ml 氨苄培养基, 37°C、220 r/min 摇菌过夜, 将菌液进行测序分析。测序结果与 NCBI 的 BLAST 网上数据库比对, 获得阳性克隆信息, 并从中筛选出未发生移码的克隆。

1.2.5 β 半乳糖苷酶活性分析 将 pACT2-VTN 和 pGBKT7-HIRRP 共转到 Y187 酵母感受态细胞中, 均匀涂布在 DDO 培养板上, 30°C 培养 3~5 d, 将单菌落转移至 QDO 培养板上, 30°C 继续培养, 挑取能在 QDO 培养板上正常生长的菌落, 用 ONPG 液体法检测菌体产生的 β 半乳糖苷酶活性, 间接判断 HIRRP 与 VTN 的作用强弱(阴性对照; 共转 pGBKT7-Lam 和 pGADT7-T, 阳性对照; 共转 pGBKT7-53 和 pGADT7-T)。

1.2.6 免疫共沉淀分析 HIRRP 与 VTN 在 CHO 细胞内的相互作用 构建 pGEX-HIRRP 表达载体, 原核表达 HIRRP-GST 融合蛋白, 并分离纯化, 免疫小鼠, 制备抗 HIRRP 的多克隆抗体。再构建 pcDNA3.1-HIRRP 和 pcDNA3.1-VTN 真核表达载体, 并将构建好的两种载体分别单转和共转 15 μg 至 CHO 细胞中 (50 cm² 培养皿), 表达 40 h, 300 μl RIPA 裂解液抽提细胞总蛋白, 每 100 μl 细胞裂解抽提液中加入 20 μl

自制的 HIRRP 抗体(或 2 μl VTN 抗体), 于 4°C 轻缓振荡孵育 2 h, 再加入 50 μl A 和 G 蛋白琼脂糖珠继续振荡孵育过夜, 3 000 r/min 离心 1 min 收集琼脂糖珠, 经 RIPA 裂解液漂洗 5 次后, 用 VTN 抗体或 HIRRP 抗体进行 Western 印迹, 检测 HIRRP 与 VTN 的相互作用。

1.2.7 双荧光共定位分析 构建绿色荧光表达载体 pEGFP-HIRRP 和红色荧光表达载体 pDsRed-VTN, 并共转染到爬片 CHO 细胞中, 培养 24 h 后取出爬片细胞, 荧光显微镜下观察并拍照。

1.2.8 MTT 法检测 HIRRP-GST 和 VTN-GST 对细胞增殖的影响 用 Vero 细胞铺于 96 孔板, 1 000 个细胞/孔, 加入 37°C 预孵育 1 h 后的 HIRRP-GST 和 VTN-GST 混合物进行刺激(对照; 刺激物分别为 GST、HIRRP-GST、VTN-GST 和不加刺激物的空白对照), 所有刺激物浓度均为 0.5 μg/100 μl/孔, 37°C、5% CO₂ 细胞培养箱内培养 36 h 后, 每孔加入 20 μl MTT 溶液(5 mg/ml), 37°C 孵育 4 h, 将每孔培养液吸尽后, 加入 150 μl/孔 DMSO, 轻微震荡 10 min 后, 用酶标仪检测 490 nm 波长的吸光值。

1.2.9 MTT 法检测外源融合蛋白 HIRRP-GST 与 VTN-GST 对 HSV-1 入胞过程的影响 用 Vero 细胞铺于 96 孔板, 1 000 个细胞/孔, 37°C 培养 36 h 后, 加入刺激物(表 1)和 HSV-1(刺激物浓度为 0.5 μg/100 μl; HSV-1 剂量为 0.1 MOI), 37°C 细胞培养箱内培养 24 h 后, 每孔加入 20 μl MTT 溶液(5 mg/ml), 37°C 孵育 4 h, 将每孔培养液吸尽后, 加入 150 μl/孔 DMSO, 轻微震荡 10 min 后, 用酶标仪检测 490 nm 波长的吸光值。

1.2.10 q-PCR 分析 VTN 和 HIRRP 的相互作用在细胞抗病毒感染过程中的功能 单转 4 μg pcDNA3.1-

Table 1 Stimulus accessions

Groups	Conditions
Control groups	1、Negative control: no stimulus, no HSV-1 2、Positive control: only HSV-1, no stimulus
Experimental groups	3、GST and the HSV-1 co-stimulated 4、HIRRP-GST and HSV-1 co-stimulated 5、Anti-VTN MAb and HSV-1 co-stimulated 6、HIRRP-GST and VTN-GST mixture incubated 1h, then incubated with the HSV-1 1 h, then stimulated the cells 7、Anti-VTN MAb and VTN-GST mixture incubated 1 h, then incubated with the HSV-1 1 h, then stimulate the cells 8、VTN-GST incubated with HSV-1 in 1 h, then stimulate the cells

HIRRP 质粒或共转 4 μ g pcDNA3.1-HIRRP 质粒和 pcDNA3.1-VTN 质粒至 Vero 细胞中(24孔板), 37°C 培养 24 h, 加入 HSV-1 进行刺激, 并于病毒刺激后 2h、4h、6h、8h、10h、12h 收集细胞, 提取总 RNA, 并用 Oligo dT 引物逆转出总的 cDNA, 然后用 q-PCR 分析病毒立即早期基因(ICP0)和早期基因(tK)的表达水平(对照: 单转 pcDNA3.1 空载体)。

2 结果

2.1 HIRRP 诱饵蛋白表达载体的构建、自激活检测及酵母双杂交

经测序验证, 确认 pGBKT7-HIRRP 获得成功构建; 自激活试验显示 HIRRP 无自激活活性和细胞毒活性; 再经过酵母双杂交和测序比对, 筛选出了我们感兴趣的蛋白 VTN, 该蛋白以完整的序列整合在人肝细胞 cDNA 文库中。

2.2 β 半乳糖苷酶活性检测 HIRRP 与 VTN 的作用强弱

通过对含有 pGADT7-VTN 和 pGBKT7-HIRRP 两种质粒的酵母菌 Y187 进行 β 半乳糖苷酶活性分析, 发现 VTN 和 HIRRP 能在酵母菌内发生了相互作用, 从而能启动 β 半乳糖苷酶报告基因的表达。对比阴阳性对照实验(图 1), 表明 VTN 和 HIRRP 在酵母菌内能形成一定强度的相互作用。

2.3 胞内免疫共沉淀证实 HIRRP 与 VTN 直接相互作用

免疫共沉淀显示: 用抗 VTN 的抗体抓, 用抗

HIRRP 的抗体染, 能证实 VTN 和 HIRRP 在细胞内能发生相互作用; 用同样方法, 进行反向免疫共沉淀, 即用抗 HIRRP 抗体抓, 用抗 VTN 的抗体染, 也能证实 VTN 和 HIRRP 在细胞内能发生相互作用(图 2)。

2.4 HIRRP 及 VTN 在 CHO 细胞中的双荧光共定位

将绿色荧光表达载体 pEGFP-HIRRP 和红色荧光表达载体 pDsRed-VTN 共转入 CHO 细胞中, 均能获得一定量的表达, 带有绿色荧光的 HIRRP 融合蛋白表达量较高, 分布在胞质中, 主要靠近细胞膜的部位; 带有红色荧光的 VTN 融合蛋白表达量相对较低, 主要分布在靠近细胞膜处 HIRRP 融合蛋白密集部位(图 3)。

2.5 外源融合蛋白 HIRRP-GST 与 VTN-GST 对细胞增殖的影响

外源融合蛋白 HIRRP-GST 和 GST 对 Vero 细胞

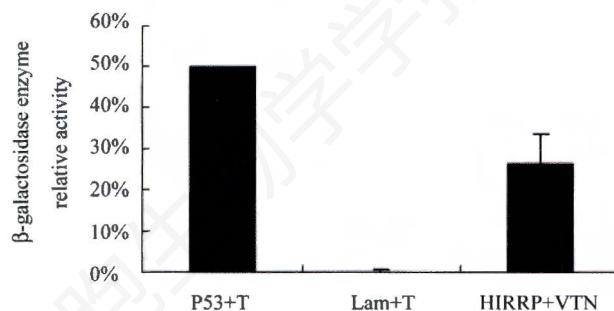


Fig.1 β -galactosidase enzyme relative activity

P53+T as a positive control; Lam+T as a negative control; HIRRP+VTN for the experimental group. Vertical coordinates means the value of the percentage relative to positive control. Positive control to take half of the value.

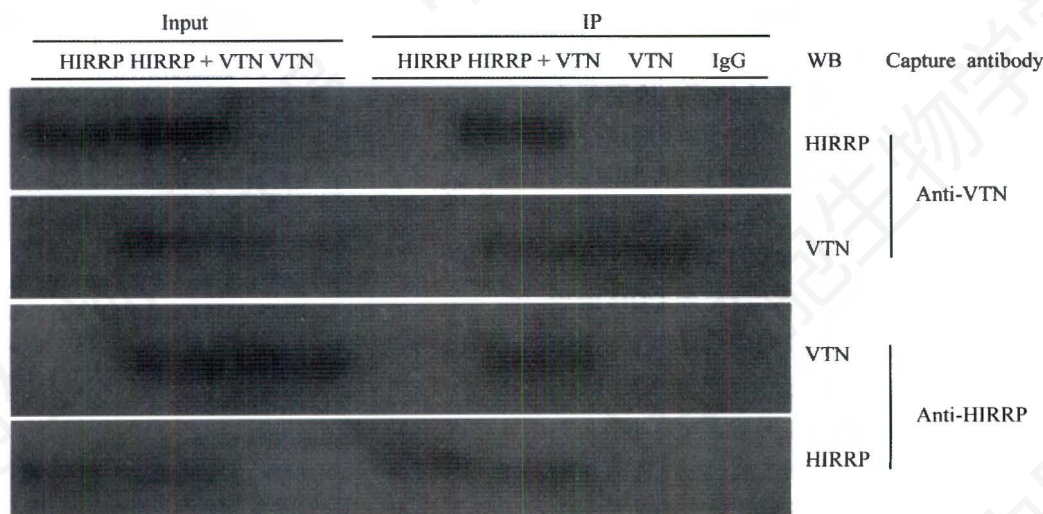


Fig.2 CoIP shows VTN and HIRRP interaction in CHO cells

The results of the CoIP photo record.

不具有促增殖作用, 它们的促增殖效应与细胞对照没有显著区别, 而外源融合蛋白 VTN-GST 对 Vero 细胞表现出一定的生长促进作用, 但这种促生长作用能被 HIRRP-GST 预处理而有所削弱(图 4)。

2.6 外源融合蛋白 HIRRP-GST 与 VTN-GST 对 HSV-1 入胞过程的影响

HSV-1 入胞干预实验结果表明, 用 anti-VTN MAb 封闭胞外 VTN, 能明显降低 HSV-1 的感染几率, 用外源融合蛋白 HIRRP-GST 封闭胞外 VTN, 也在一定程度上降低了 HSV-1 的感染几率。如果预先用外源融合蛋白 VTN-GST 封闭 HSV-1 上可能存在的 VTN 结合位点, 在一定程度上也降低了 HSV-1 的感染几率, 但如果用 anti-VTN MAb 或 HIRRP-GST 作用 VTN-

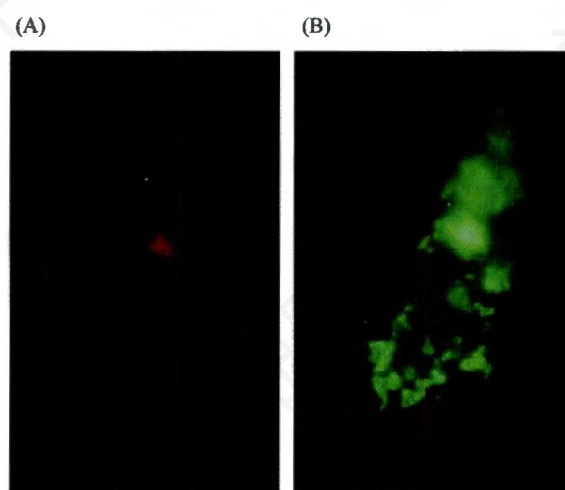


Fig.3 Dual fluorescence co-localization analysis

Green fluorescence signify HIRRP, red fluorescence signify VTN. A: the vision of the red fluorescence; B: the vision of the green fluorescent.

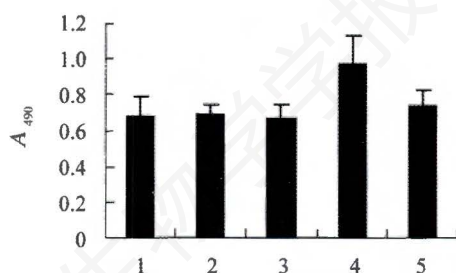


Fig.4 Proliferation effect of Vero cell after stimulated by HIRRP-GST and VTN-GST

1: cell control; 2: GST control; 3: HIRRP-GST alone stimulation; 4: VTN-GST alone stimulation; 5: HIRRP-GST and VTN-GST mixture was incubated 1 h, then cells were stimulated. The final concentration of stimulus is 0.51 g/100 l/well, cells control were added with the same volume of PBS.

GST 之后, 能在某种程度上削弱 VTN-GST 对 HSV-1 上 VTN 结合位点的封闭作用(图 5)。

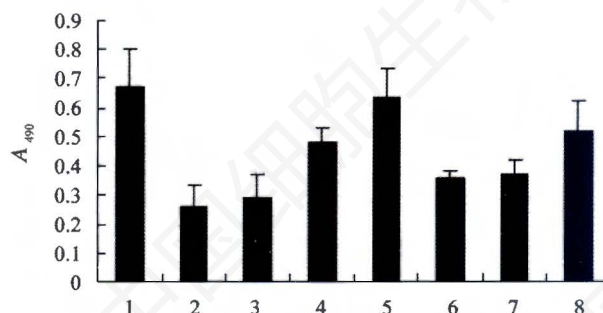


Fig.5 Effect of HIRRP-GST and VTN-GST on the ability of Vero cells against HSV-1

1: cells negative control; 2: HSV-1 positive control; 3: GST and the HSV-1 co-stimulated; 4: HIRRP-GST and HSV-1 co-stimulated; 5: anti-VTN MAb and HSV-1 co-stimulated; 6: HIRRP-GST and VTN-GST mixture incubated for 1h, then incubated with the HSV-1 for 1h, then stimulated cells; 7: anti-VTN MAb and VTN-GST mixture incubated for 1h, then incubated with the HSV-1 for 1h, then stimulate the cells; 8: VTN-GST incubated with HSV-1 for 1h, then stimulate the cells. All stimulus were added at the same time (the dose of the stimulus and HSV-1 were 0.51 g/100 l and 0.1 MOI, respectively).

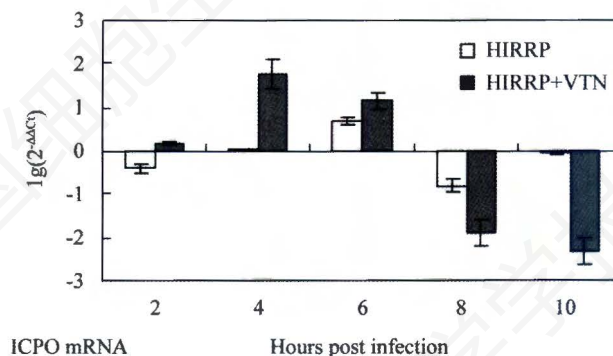


Fig.6 Transcription levels of ICP0 of HSV-1 when VTN and HIRRP were over-expressed in Vero cells

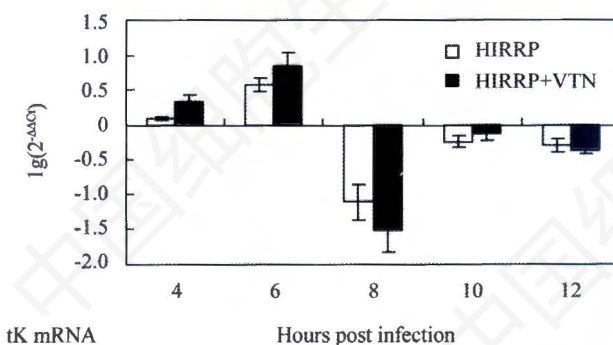


Fig.7 Transcription levels of tk of HSV-1 when VTN and HIRRP were over-expressed in Vero cells

2.7 上调 VTN 与 HIRRP 的表达水平对 HSV-1 基因转录水平的影响

我们的实验结果显示,上调 HIRRP 的表达,对 HSV-1 感染初期的立即早期基因(ICP0)以及早期基因(tK)的表达有所促进,但这种促进作用在 HSV-1 感染 6 h 后便很快消失,随之而来的是 HSV-1 的立即早期基因(ICP0)以及早期基因(tK)的表达受到明显的抑制。VTN 与 HIRRP 发生相互作用能增强 HIRRP 的这种作用效果(图 6 和图 7)。

3 讨论

HIRRP 自 2001 年由日本科学家 Isogai 等^[1]通过对人的 cDNA 进行测序而被发现之后,在已过去的近十年,国内外均没有有关 HIRRP 的功能报道。我们的工作首次发现在 HSV-1 感染的 L02 细胞中高表达 HIRRP 蛋白,表明 HIRRP 蛋白可能参与了细胞的抗病毒过程,因而具有重要的研究意义。

通过酵母双杂交实验,我们筛选出了多种能与 HIRRP 可能发生相互作用的蛋白,其中 VTN 引起了我们较浓厚的兴趣。VTN 作为细胞外基质的一种主要分子,参与了细胞黏附^[2]、迁移^[3,4]、促细胞生长、存活、增殖^[5~7]、分化^[8]以及参与凝血^[9]和纤溶^[10]等多种生物学事件。然而,有关 VTN 的细胞内生物学功能却罕有报道。对于这样一种多功能蛋白,弄清其在细胞内是否具有作用以及在细胞内它会行使怎样的功能显得比较让人关注。于是我们设计了免疫共沉淀和荧光共定位等验证实验,证实了 VTN 和 HIRRP 在细胞内确实能发生相互作用。

我们的前期工作从多角度证实了 HIRRP 参与了细胞抗病毒感染的过程,为了弄清 VTN 和 HIRRP 在细胞内的相互作用所引发的生物学效应,我们上调了 VTN 和 HIRRP 在细胞内的表达水平,并用 q-PCR 检测了 HSV-1 的立即早期基因(ICP0)和早期基因(tK)的表达水平变化情况,结果显示 VTN 对 HIRRP 的作用具有协同促进效果。同时,q-PCR 结果还显示,在感染初期,HIRRP 能增强 ICP0 和 tK 的表达,而在感染后期却表现出抑制 ICP0 和 tK 的表达,我们前期的工作通过免疫共沉淀也证实了 HIRRP 与 ATF-5 存在着相互作用关系,因而表明 HIRRP 有可能通过与 ATF-5 的作用,参与了 RNA polymerase III 识别病原微生物 DNA 或协同 RNA polymerase III 发生促进病原微生物 DNA 转录成 dsRNA,以供 RIG-1 或 Mda5 识别而启动细胞抗病毒等外源病原微生物的应答^[11~15];此外,

Caspases 也能参与抗原的加工提呈^[16,17],最新的研究表明 Caspases 在病毒感染的细胞内,除了能启动凋亡和炎症等抗病毒作用的方式外,还能加工病毒来源的抗原成为供 CD8⁺T 细胞识别的短肽,这种短肽与 MHC II 所提呈的由蛋白酶体加工而来的短肽完全不同或存在部分重叠^[18],表明 Caspases 途径有可能是一种细胞内最早启动的抗病毒方式,因此,HIRRP 也有可能通过与 ATF-5 发生作用,促进 RNA polymerase II 对病原微生物基因的转录表达,增加病毒来源的抗原量,扩大病毒感染这种危险信号,从而促进 Caspases 途径的有效启动。

总之,我们在本文中主要筛选到了 HIRRP 的相互作用蛋白 VTN,并从胞内外等不同的角度均证实了两者所具有的相互作用,这种相互作用能通过某种方式增强细胞的抗病毒感染能力,而至于这种作用方式的具体机制仍有待于进一步深入研究。

参考文献(References)

- Ota T, Suzuki Y, Nishikawa T, Otsuki T, Sugiyama T, Irie R, *et al.* Complete sequencing and characterization of 21,243 full-length human cDNAs. *Nat Genet* 2004; 36(1): 40-5.
- Taku M, Yasuhiko K, Masao S, Kazumori F. Vitronectin enhances adhesion force and t-PA production of weakly adherent 293 cells exposed to a shear stress. *Cytotechnology* 2000; 32: 181-90.
- Bafetti LM, Young TN, Itoh Y, Stack, MS. Intact vitronectin induces matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinases-2 expression and enhanced cellular invasion by melanoma cells. *J Biol Chem* 1998; 273(1): 143-9.
- Hillig T, Engelholm LH, Ingvarsen S, Madsen DH, Gårdsvoll H, Larsen JK, *et al.* A composite role of vitronectin and urokinase in the modulation of cell morphology upon expression of the urokinase receptor. *J Biol Chem* 2008; 283(22): 15217-23.
- Schleicher I, Parker A, Leavesley D, Crawford R, Upton Z, Xiao Y. Surface modification by complexes of vitronectin and growth factors for serum-free culture of human osteoblasts. *Tissue Eng* 2005; 11(11-12): 1688-98.
- Ainscough SL, Barnard Z, Upton Z, Harkin DG. Vitronectin supports migratory responses of corneal epithelial cells to substrate bound IGF-I and HGF, and facilitates serum-free cultivation. *Exp Eye Res* 2006; 83(6): 1505-14.
- Van Lonkhuyzen DR, Hollier BG, Shooter GK, Leavesley DI, Upton Z. Chimeric vitronectin: insulin-like growth factor proteins enhance cell growth and migration through co-activation of receptors. *Growth Factors* 2007; 25(5): 295-308.
- Gil JE, Woo DH, Shim JH, Kim SE, You HJ, Park SH, *et al.* Vitronectin promotes oligodendrocyte differentiation during neurogenesis of human embryonic stem cells. *FEBS Letters* 2009; 583(3): 561-7.

- 9 Stoop AA, Lupu F, Pannekoek H. Colocalization of thrombin, PAI-1, and vitronectin in the atherosclerotic vessel wall: a potential regulatory mechanism of thrombin activity by PAI-1/vitronectin complexes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(4): 1143-9.
- 10 Schar CR, Jensen JK, Christensen A, Blouse GE, Andreasen PA, Peterson CB. Characterization of a site on PAI-1 that binds to Vitronectin outside of the somatomedin B domain. *J Biol Chem* 2008; 283(42): 28487-96.
- 11 Cao XT. New DNA-sensing pathway feeds RIG-I with RNA. *Nat Immunol* 2009; 10(10): 1065-72.
- 12 Andrea A, Franz B, Gunther H, Eicke L, Katherine AF, Veit H. RIG-I-dependent sensing of poly(dA:dT) through the induction of an RNA polymerase III-transcribed RNA intermediate. *Nat Immunol* 2009; 10(10): 1049-51.
- 13 Chiu YH, Macmillan JB, Chen ZJ. RNA polymerase III detects cytosolic DNA and induces type I interferons through the RIG-I pathway. *Cell* 2009; 138(3): 576-91.
- 14 Takeuchi O, Akira S. Innate immunity to virus infection. *Immunol Rev* 2009; 227: 75-86.
- 15 Takeuchi O, Akira S. MDA5/RIG-I and virus recognition. *Curr Opin Immunol* 2008; 20(1): 17-22.
- 16 Rowland-Jones S, Dong T. Dying T cells trigger autoimmunity in HIV. *Nat Med* 2007; 13(12): 1413-5.
- 17 Rawson PM, Molette C, Videtta M, Altieri L, Franceschini D, Donato T, *et al.* Cross-presentation of caspase-cleaved apoptotic self antigens in HIV infection. *Nat Med* 2007; 13(12): 1431-9.
- 18 López D, García-Calvo M, Smith GL, Del Val M. Caspases in virus-infected cells contribute to recognition by CD8⁺ T lymphocytes. *J Immunol* 2010; 184(9): 5193-9.

A New Anti-viral Molecule HIRRP Protein Interaction Screening, Validation and Biological Function Analysis

Lian-Qiu Wu, Song-Qing Tang, Yun Liao, Ying Zhang, Jie Chen, Wei Li, Cheng-Hong Dong, Long-Ding Liu, Qi-Han Li*
(Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Science, Peking Union Medical College, Kunming 650118, China)

Abstract HSV-1 infection related repress protein (HIRRP) is a new protein with unknown structure and function. In our previous work, we found that HIRRP can obtain highly expression in Vero cells infected by HSV-1 and we speculated that HIRRP may take part in the event of anti-infection. However, the underlying mechanisms remain to be fully understood. Vitronectin (VTN) is a candidate molecule hold a relationship with HIRRP by yeast trap. We further demonstrated that VTN can react with HIRRP by Co-IP, fluorescence co-localization, cell proliferation and anti-virus analysis, and this reaction can gain a collaborative effect in anti-infection. Taken together, our data suggest that VTN can make relationships with HIRRP, and this relationship may act a function of anti-infection.

Key words yeast trap; HSV-1 infection related repress protein; Vitronectin

Received: June 28, 2010 Accepted: October 14, 2010

*Corresponding author. Tel: 86-871-8335905, E-mail: imbcams.lq@gmail.com