

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
54 (4) :376 – 382; 4 April 2014
ISSN 0001 – 6209; CN 11 – 1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.04.003

偏肺病毒对副粘病毒细胞融合的新注释

刘晓瑜¹, 章晓栋², 魏永伟^{3*}

¹绍兴文理学院医学院, 浙江 绍兴 312000

²绍兴文理学院生命科学学院, 浙江 绍兴 312000

³宁波大学海洋学院, 浙江 宁波 315211

摘要:对于副粘病毒科中的大多数病毒而言,细胞融合过程需要病毒的融合蛋白和吸附蛋白共同参与,其中吸附蛋白负责与受体结合,吸附蛋白与融合蛋白的相互作用激活融合蛋白进而激活细胞融合。而偏肺病毒介导的细胞融合则与上述副粘病毒的融合显著不同,所有已报道偏肺病毒介导的细胞融合不需要吸附蛋白的参与,其融合蛋白可单独完成与受体结合和融合。并且近年研究发现有些人偏肺病毒毒株介导的融合需要低 pH 条件,禽偏肺病毒 A 型具备极强的融合能力,而禽偏肺病毒 B 型则较弱。原有的副粘病毒细胞融合理论模型均不能解释上述现象,偏肺病毒介导的这种融合机制目前还不清楚,其研究在近几年日趋成为细胞融合机制研究的热点。近年发现的偏肺病毒介导的融合现象打破了人们对副粘病毒融合的固有理解,拓展了人们对副粘病毒介导的细胞融合的认识。本文旨在对偏肺病毒介导的细胞融合的最新成果和进展加以综述和讨论。

关键词:偏肺病毒, 细胞融合, 融合蛋白

中图分类号:R373.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0001-6209(2014)04-0376-07

对于囊膜病毒而言,当其感染宿主细胞时,首先是位于病毒粒子表面的糖蛋白与位于靶细胞膜表面的受体结合,进而介导病毒的囊膜与靶细胞膜之间相互融合,或者通过内吞途径病毒粒子(virion)与内体(endosome)膜之间相互融合,以使病毒遗传物质释放到靶细胞中,从而启动病毒本身的复制。很多囊膜病毒感染靶细胞后,引起细胞病变的一个重要特征就是形成合胞体(syncytia)。该现象是由受感染的细胞与其周围细胞相互融合而成,形成一个包含多个细胞核的合胞体(multi-nucleate syncytia)。

这种细胞融合现象是由位于病毒囊膜表面的糖蛋白所引起,并且这种现象亦可由单独在靶细胞内表达病毒糖蛋白所产生。通过研究病毒糖蛋白所引起的细胞融合成为研究囊膜病毒感染机制的重要工具^[1-2]。

副粘病毒科包括副粘病毒和肺病毒两个亚科。对于副粘病毒亚科中的病毒而言,细胞融合过程需要病毒的融合蛋白和吸附蛋白共同参与;对于肺病毒亚科中的呼吸道合胞病毒介导的细胞融合而言,虽然其不需要吸附蛋白的参与,但

基金项目:浙江省教育厅项目(Y201225839);绍兴市科技计划项目(2011A22008);宁波大学人才引进工程项目(013-E00827134702)

* 通信作者。E-mail: virology001@ gmail. com

作者简介:刘晓瑜(1982-),河南安阳人,女,博士,讲师。

收稿日期:2013-07-02; **修回日期:**2013-10-10

是其 F 蛋白具有 2 个剪切位点独特结构在激活细胞融合中起着重要作用。目前,对上述副粘病毒介导的细胞融合研究较为详细,而对于肺病毒亚科中的偏肺病毒介导的细胞融合则知之较少,其研究近几年才刚刚兴起,并日趋成为细胞融合机制研究的热点^[3-6]。目前在国内还未见任何有关偏肺病毒介导的细胞融合机制相关研究,也没有关于偏肺病毒细胞融合机制的相关综述类文章。本文旨在对偏肺病毒介导的细胞融合的最新成果和进展加以综述和讨论。

1 偏肺病毒及其特性

偏肺病毒属(*Metapneumovirus*) 在病毒分类学中属于副粘病毒科(*Paramyxoviridae*), 肺病毒亚科(*Pneumovirinae*)。偏肺病毒属包括人偏肺病毒(Human metapneumovirus, hMPV) 和禽偏肺病毒(Avian metapneumovirus, aMPV)^[7]。hMPV 由 Van den Hoogen 研究小组于 2001 年首次从患有下呼吸道疾病的儿童的呼吸道分泌物中分离得来^[8]。hMPV 主要感染 5 岁以下儿童,近几年研究发现成年人也可感染 hMPV。hMPV 分为 A 和 B 两个型,可引起上呼吸道感染疾病以及严重的下呼吸道感染。hMPV 的致病性与人呼吸道合胞病毒(Human respiratory syncytial virus, hRSV) 相似,可引起支气管上皮细胞炎症^[9-10]。aMPV 于 20 世纪 70 年代发现,根据基因序列和编码的氨基酸序列可分为 A、B、C 和 D 四型^[7-11],主要感染鸡和火鸡,引起鸡或火鸡的呼吸道疾病,产蛋下降,给养殖业带来很大危害^[11]。

偏肺病毒为囊膜病毒,病毒粒子直径大约 100 - 500nm,其基因组全长约 13 kb。基因组包括 8 个阅读框,编码 9 种蛋白。编码的蛋白包括融合蛋白 F (Fusion protein)、吸附蛋白 G (Attachment protein)、小疏水蛋白 SH (Small Hydrophobic protein)、基质蛋白 M (Matrix protein)、核蛋白 N (Nucleoprotein)、磷蛋白 P (Phosphoprotein)、大聚合酶蛋白 L (Large polymerase protein) 和第二基质蛋白 M2 (Second matrix protein), M2 蛋白含 M2-1 和 M2-2 两种蛋白分子。其中蛋白 F、G 和 SH 位于病毒囊膜表面,属糖蛋白,与病毒的侵染有关^[12]。

2 偏肺病毒细胞融合机制

2.1 偏肺病毒 F 蛋白结构特征

根据病毒融合蛋白的结构特征,病毒融合蛋白主要分为 I 型和 II 型, I 型融合蛋白为三聚体结构, II 型融合蛋白为二聚体结构^[13]。偏肺病毒 F 蛋白属 I 型融合蛋白,主要包含以下几个功能域: (1) 剪切位点 (cleavage site), 偏肺病毒 F 蛋白剪切位点由 R-X-X-R 4 个氨基酸组成,两端由碱性氨基酸 R 组成,中间两个氨基酸可因病毒的种类不同而有所差异; (2) 融合肽 (fusion peptide, FP), 由 17 个氨基酸组成,当三聚体被激活时,融合肽插入到临近的细胞膜内; (3) 2 个七肽重复区 HRA 和 HRB (heptad repeat regions, HRA and HRB), 在细胞融合过程中, HRA 和 HRB 可形成稳定的 6HB 结构 (six-helix bundle); (4) 跨膜区 (transmembrane, TM), 指 F 蛋白插入到细胞膜的区域; (4) 质膜区 (cytoplasmic tail, CT), 指 F 蛋白在细胞质内的区域,其功能不详。F 蛋白首先合成前体蛋白 F0, 经蛋白酶剪切成 F1 和 F2 两个片段, F1 和 F2 以二硫键的形式相连接。F 蛋白需由 3 个 F 蛋白单体 (monomer) 形成“锥子”状的三聚体 (trimer) 后才具备细胞融合功能^[4-5]。

2.2 hMPV F 蛋白细胞融合特征

2.2.1 剪切位点对细胞融合的影响: hMPV F 蛋白的剪切位点由“RQSR”4 个氨基酸组成,单独在细胞内表达 F 蛋白并不能进行有效剪切,必须借助胰蛋白酶才能完成。所以单独在细胞内表达 hMPV F 蛋白并不能引起细胞融合现象。将“RQSR”突变成“RQSA”时,即便借助胰酶, F 蛋白也不能有效剪切和引起细胞融合。将“RQSR”突变成内源酶 furin 所能识别的“RRRR”时,在不加外源性胰酶的情况下, F 蛋白可以进行低效剪切,也只能引起少许细胞融合,可见内源性蛋白酶并不是 hMPV F 蛋白剪切所首选^[14]。

2.2.2 pH 对细胞融合的影响: pH 环境对 hMPV F 蛋白细胞融合的影响因毒株而异。Showalter 等发现 CAN97-83 株 F 蛋白需在低 pH 环境下 (pH < 5.5) 才能引起细胞融合^[14-15]。随后, Herfst 等发现只有 A 型中的某些毒株需低 pH 条件,这一差异是由第 294 位氨基酸所引起。当第 294 位氨基酸为 Gly 时, F 蛋白需要在低 pH 值环境下激发细胞融合,当其为

Glu 时, F 蛋白在中性条件下即可引起细胞融合。而 B 型无需低 pH 值条件^[15]。后续研究表明更多的氨基酸参与 pH 值对细胞融合的影响, 这些氨基酸包括 296, 368, 396, 404, 435 五个位点, 这些氨基酸与第 294 位氨基酸在 F 蛋白三维结构中非常接近, 共同控制着 pH 对细胞融合的影响^[15-17]。

2.2.3 G 蛋白对细胞融合的影响: 副粘病毒科的大多数病毒需吸附蛋白参与才能引起细胞融合。hMPV F 蛋白无需借助吸附蛋白 G 即可引起细胞融合, 但在不同的细胞系中略有差异。在 BHK 细胞中, G 蛋白可少许增强 F 蛋白引起的细胞融合, 而在 Vero-118 细胞中则没有明显影响, 其原因目前仍不清楚。当应用含 F 蛋白的病毒样粒子或含 F 和 G 两种蛋白的病毒样粒子进行实验时发现含 G 的 VLP 并未增强细胞的半融合动力曲线。所以, 在 hMPV F 介导的融合中 G 蛋白不是重要的参与因素^[14]。

2.2.4 糖基化对细胞融合的影响: hMPV F 蛋白含 N57、N172 和 N353 三个糖基化位点。N57 位于 F2 片段内, N172 和 N353 位于 F1 片段内。分别对这 3 个糖基化位点进行突变研究显示, 突变体 N57 对细胞融合略有减弱, 突变体 N172 和 N353 细胞融合能力明显减弱。这些影响是由突变体在细胞表面的表达减弱所引起^[14]。hMPV F 蛋白糖基化对其细胞融合功能的影响与 hRSV F 蛋白对其细胞融合有明显不同。hRSV F 蛋白包含 3 个糖基化位点, N27 和 N70 位于 F2 片段内, N500 位于 F1 片段内。N27 对其细胞融合功能无明显影响, 去除 N70 的糖基化可增强 RSV F 蛋白的细胞融合功能, 去除 N500 的糖基化可显著减弱 hRSV F 蛋白的细胞融合功能, 而这些突变均对 F 蛋白的细胞表面表达无显著影响^[18]。

2.3 aMPV F 蛋白细胞融合特征

目前对 aMPV F 蛋白引起的细胞融合知之甚少, 仅本研究小组在国际上率先对 aMPV 各个型 F 蛋白的融合特征进行了系统研究。研究发现, aMPV 的 A、B 和 C 3 个型如同肺病毒亚科的其它病毒(如 RSV 和 hMPV) 一样, 在没有吸附蛋白的参与下 F 蛋白可单独引起细胞融合, 并且引起的细胞融合均不需要低 pH 条件刺激。但是, aMPV 的 A、B 和 C 三型引起的细胞融合特征有显著差异, 并且与 hMPV F 蛋白引起的细胞融合也明显不同。其中 A 型 aMPV

F 蛋白可引起极强的细胞融合, B 型的融合能力最弱, C 型融合能力介于二者之间。并且, aMPV B 型病毒的 F 蛋白需借助外源性蛋白酶才能引起细胞融合。aMPV A 型与 B 型病毒 F 蛋白的氨基酸同源性达到 80% 以上, 而二者融合活性却相差极大。通过构建 aMPV A 型与 B 型 F 蛋白的嵌合体, 将引起 A、B 两型 F 蛋白融合活性差异的氨基酸定位到第 295、297 和 323 三个位点, 这 3 个氨基酸共同决定其融合能力的强弱^[19]。aMPV D 型病毒 F 基因序列目前还没有任何报道, GenBank 数据库中亦没有 D 型 aMPV F 基因序列, 其 F 蛋白介导的细胞融合也没有相关研究。

2.4 偏肺病毒 F 蛋白细胞融合机制

2.4.1 副粘病毒介导的细胞融合模型: 在融合过程中, F 蛋白在细胞内表达并被转运到细胞表面, 在受体或其它条件刺激下, F 蛋白三聚体被激活, 融合肽插入到临近的细胞膜中, 随后 F 蛋白发生一系列结构变化(由不稳定的融合前状态到稳定的融合后状态), F 蛋白将两个细胞膜拉在一起并最终完全融合。这个过程中最为重要的就是 F 蛋白是如何被激活的。副粘病毒 F 蛋白的激活是一个复杂过程, 目前人们提出了多种假说模型解释 F 蛋白的激活, 其中被人们普遍接受的主要有以下几种^[5,20]。

第一种假说认为, F 蛋白和吸附蛋白在合成与转运到细胞膜表面的过程中在内质网上发生相互作用, 吸附蛋白在这一过程起着稳定 F 蛋白的作用, 以使 F 蛋白保持其融合前的结构状态。在与受体结合之后, 吸附蛋白将 F 蛋白释放以使其能够激活融合。这种假说目前已被麻疹病毒和新城疫病毒的实验研究所支持。第二种假说是 F 蛋白与吸附蛋白各自独立地转运到细胞表面并在细胞表面发生相互作用, 在细胞表面吸附蛋白与受体结合, 这种与受体的结合破坏吸附蛋白和 F 蛋白的相互作用继而使 F 蛋白激活。这种模型被亨德拉病毒和尼帕病毒的实验研究所支持。第三种假说模型提出在与受体相互作用之前吸附蛋白和 F 蛋白二者之间并没有相互作用, 与受体作用后其两种糖蛋白之间的相互作用再激活 F 蛋白。第四种假说模型是有关 hRSV F 蛋白介导的细胞融合。hRSV 在病毒分类上归为肺病毒属, 与偏肺病毒属同属肺病毒亚科, 其 F 蛋白介导的膜融合也不需要吸附蛋白的参与。但 RSV F 蛋白具有两个酶切位点, 这一独特特征是其

它副粘病毒所不具备的,最近研究表明可能是其第二个位点的剪切激活了 F 蛋白^[21-23]。

2.4.2 偏肺病毒 F 蛋白介导的细胞融合:显而易见,上述 4 种假说均不能解释偏肺病毒 F 蛋白激发的细胞融合。因为偏肺病毒 F 蛋白只具备一个酶切位点,也无需借助吸附蛋白的参与而单独完成整个融合过程。这说明偏肺病毒的 F 蛋白必须具有与受体结合和激发融合的双重功能。

近年来,通过突变实验人们已经确立了偏肺病毒 F 蛋白中一些氨基酸或功能域在细胞融合中的重要作用。最初, Schowalter 等研究发现 hMPV CAN97-83 株 F 蛋白介导的细胞融合不仅需要添加胰酶,也需要低 pH 条件刺激^[14-15]。但随后的研究证明低 pH 刺激条件仅适应于某些毒株。Herfst 等发现 hMPV B 型 F 蛋白引起的细胞融合是非 pH 依赖,并且发现 A 型 F 蛋白中第 294 位的 Gly 是决定其 pH 依赖特性的关键氨基酸^[16]。Williams 研究小组比较了已经公开的 1000 多株来源于世界各地的 hMPV F 序列,发现大部分 hMPV F 蛋白在 294 位编码的氨基酸是 Glu,约有 6% 的 F 编码 Gly (59/1005)。仅有少数毒株 F 蛋白是低 pH 依赖性说明低 pH 在 hMPV 细胞融合中不是普遍需要的条件^[4]。

后续的研究发现 hMPV CAN97-83 株 F 蛋白的第 435 位的 His 对于 F 蛋白低 pH 激活起着关键作用,以及在 F 蛋白三维空间位置中较为接近的 Lys295、Arg396 和 Arg438 对于其 pH 依赖特性也起着非常重要的作用^[17]。有趣的是,我们对 aMPV F 蛋白的融合特征进行研究时发现 295,297 和 323 位的多个带正电荷氨基酸位点对于 aMPV F 蛋白在中性条件下引起细胞融合也扮演者非常重要的作用,而这些氨基酸位点在 F 蛋白的三维空间结构中的位置非常接近^[19]。所以,很有可能是在外部条件(如与受体的结合或低 pH 环境)的刺激下该区域局部碱性氨基酸间发生静电排斥而导致 F 蛋白三聚体结构变得不稳定并最终激活融合^[4,24]。

对于 pH 依赖型 hMPV F 蛋白而言,第 435 位氨基酸 His 的质子可能是其融合过程启动的激发点,但对于那些非 pH 依赖型的 hMPV 和 aMPV 而言是由什么来激发这一融合过程目前仍不清楚。或许 F 蛋白与受体的直接相互作用引起类似上述的静电排斥以激活 F 蛋白。最近的研究发现,hMPV F 蛋白

可以与细胞表面的 SH 和 integrin 相互作用^[25-26],并且通过反向遗传系统拯救获得的缺失 G 蛋白的重组 hMPV 和 aMPV 也能够细胞内高效复制,这说明 F 蛋白可直接与靶细胞内的受体相互作用。所以,对于那些非 pH 依赖型的 hMPV 和 aMPV 而言可能是 F 蛋白与受体的结合直接激活了 F 蛋白。

3 未来研究展望

偏肺病毒引起的细胞融合与其它副粘科病毒明显不同,对其研究也在近几年刚刚兴起,其融合机制也知之甚少,很多问题还有待解决,这其中最为重要的几个问题主要有以下几个方面。

3.1 偏肺病毒 F 蛋白的晶体结构仍未解析

融合蛋白介导的膜融合过程也就是 F 蛋白由融合前状态变为融合后状态的过程,F 蛋白发生的一系列不可逆的重新折叠将相邻的两个细胞膜拉近并最终融合,所以解析 F 蛋白的融合前和融合后的空间结构对于理解融合机制有着重要的意义^[27]。目前,偏流感病毒 5 F 蛋白的融合前状态的晶体结构^[28]以及新城疫病毒^[29-30]、人偏流感病毒 3^[31]和 hRSV^[32-33] F 蛋白的融合前后状态晶体结构已经成功解析,揭示出 F 蛋白由融合前到融合后显著的结构变化,这极大地加深了人们对副粘病毒 F 蛋白介导细胞融合过程的理解。但由于偏肺病毒引起的细胞融合与其它副粘病毒有着显著的差异,它不需要借助吸附蛋白的参与,所以解析偏肺病毒 F 蛋白的晶体结构以及与目前已解析的其它副粘病毒 F 蛋白结构进行比较将会极大地帮助人们理解其融合机制。最近,Wen X 研究小组成功解析了 hMPV F 蛋白部分片段与其抗体复合体的晶体结构,在该复合体中,解析的 hMPV F 蛋白片段部分与 hRSV F 蛋白的融合后晶体结构较为接近^[34],但其单独的 F 晶体结构还有待进一步实验研究。

3.2 偏肺病毒 F 蛋白是如何被激活的?

对于副粘病毒亚科中的病毒而言,吸附蛋白起着激活其融合蛋白的作用^[35],对于肺病毒亚科的 RSV 而言,其 F 蛋白具有两个剪切位点,其第二个剪切位点可能在 F 的激活方面起着重要作用。而对于同属肺病毒亚科的偏肺病毒,其 F 蛋白仅有一个剪切位点,引起的融合也不需要吸附蛋白的参与,那么偏肺病毒 F 蛋白激发的融合过程中是什么条

件起着如同副粘病毒亚科中吸附蛋白的激发作用, 或者说是什么因素驱动偏肺病毒 F 蛋白由不稳定的融合前状态发生结构重新折叠成稳定的融合后状态。虽然人们近年来的研究在这方面取得了一定数据(如上述中的静电排斥区和病毒侵染的受体受体鉴定), 但仍没有确定激活 F 蛋白的直接证据。

3.3 吸附蛋白 G 在膜融合中的作用

虽然在没有 G 蛋白的参与下偏肺病毒 F 蛋白单独即可激发细胞融合, 但并不是 G 蛋白对膜融合没有影响, 研究显示 hMPV G 蛋白在不同的细胞内对膜融合的影响情况不同。在 BHK 细胞中, hMPV G 蛋白可少许增强 F 蛋白引起的细胞融合, 而在 Vero-118 细胞中没有明显影响。有趣的是, 我们在研究 aMPV F 蛋白的融合特征时发现 A 型和 B 型 aMPV G 蛋白均可以显著抑制其 F 蛋白激发的细胞融合, 而 C 型 aMPV G 蛋白对其融合则没有显著影响^[18]。这其中 G 蛋白通过什么途径影响膜融合目前还不清楚, 尤其是 A 型和 B 型 aMPV G 蛋白可以显著抑制其 F 蛋白介导的细胞融合, 其机制很值得进一步进行研究。

综上所述, 偏肺病毒 F 蛋白介导的细胞融合显然与其它副粘病毒有着显著差异, 其细胞融合机制的阐述将会拓宽人们对副粘病毒 F 蛋白介导的细胞融合的理解, 拓展人们对副粘病毒介导的细胞融合的认识边界, 也将有利于人们更加深入地理解副粘病毒的分子侵入机制, 并为人们设计新型的抗病毒药物和开发新型病毒疫苗奠定理论基础。

参考文献

- [1] Sapir A, Avinoam O, Podbilewicz B, Chernomordik LV. Viral and developmental cell fusion mechanisms: conservation and divergence. *Developmental Cell*, 2008, 14(1): 11-21.
- [2] Peisajovich SG, Shai Y. New insights into the mechanism of virus-induced membrane fusion. *Trends in Biochemical Sciences*, 2002, 27(4): 183-190.
- [3] Edwards KM, Zhu Y, Griffin MR, Weinberg GA, Hall CB, Szilagyi PG, Staat MA, Iwane M, Prill MM, Williams JV. Burden of human metapneumovirus infection in young children. *New England Journal of Medicine*, 2013, 368(7): 633-643.
- [4] Cox RG, Williams JV. Breaking in: human metapneumovirus fusion and entry. *Viruses*, 2013, 5(1): 192-210.
- [5] Chang A, Dutch RE. Paramyxovirus fusion and entry: multiple paths to a common end. *Viruses*, 2012, 4(4): 613-636.
- [6] Dutch, RE. Entry and fusion of emerging paramyxoviruses. *PLoS Pathogens*, 2010, 6(6): e1000881. 2013.07.02
- [7] Broor S, Bharaj P. Avian and human metapneumovirus. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2007, 1102: 66-85.
- [8] van den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J, Kuiken T, de Groot R, Fouchier RA, Osterhaus AD. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nature Medicine*, 2001, 7(6): 719-724.
- [9] Haas LE, Thijsen SF, van Elden L, Heemstra KA. Human metapneumovirus in adults. *Viruses*, 2013, 5(1): 87-110.
- [10] Edwards KM, Zhu Y, Griffin MR, Weinberg GA, Hall CB, Szilagyi PG, Staat MA, Iwane M, Prill MM, Williams JV; New Vaccine Surveillance Network. Burden of human metapneumovirus infection in young children. *New England Journal of Medicine*, 2013, 368(7): 633-643.
- [11] Jirjis FF, Noll SL, Halvorson DA, Nagaraja KV, Shaw DP. Pathogenesis of avian pneumovirus infection in turkeys. *Veterinary Pathology*, 2002, 39(3): 300-310.
- [12] Feuillet F, Lina B, Rosa-Calatrava M, Boivin G. Ten years of human metapneumovirus research. *Journal of Clinical Virology*, 2012, 53(2): 97-105.
- [13] Sollner TH. Intracellular and viral membrane fusion: a uniting mechanism. *Current Opinion in Cell Biology*, 2004, 16(4): 429-435.
- [14] Schowalter RM, Smith SE, Dutch RE. Characterization of human metapneumovirus F protein-promoted membrane fusion: critical roles for proteolytic processing and low pH. *Journal of Virology*, 2006, 80(22): 10931-10941.
- [15] Schowalter RM, Chang A, Robach JG, Buchholz UJ, Dutch RE. Low-pH triggering of human metapneumovirus fusion: essential residues and importance in entry. *Journal of Virology*, 2009, 83(3): 1511-1522.
- [16] Herfst S, Mas V, Ver LS, Wierda RJ, Osterhaus AD, Fouchier RA, Melero JA. Low-pH-induced membrane fusion mediated by human metapneumovirus F protein is a rare, strain-dependent phenomenon. *Journal of Virology*, 2008, 82(17): 8891-8895.

- [17] Mas V, Herfst S, Osterhaus AD, Fouchier RA, Melero JA. Residues of the human metapneumovirus fusion (F) protein critical for its strain-related fusion phenotype: implications for the virus replication cycle. *Journal of Virology*, 2011, 85 (23) : 12650-12661.
- [18] Zimmer G, Trotz I, Herrler G. N-glycans of F protein differentially affect fusion activity of human respiratory syncytial virus. *Journal of Virology*, 2001, 75 (10) : 4744-4751.
- [19] Wei Y, Feng K, Yao X, Cai H, Li J, Mirza AM, Iorio RM. Localization of a region in the fusion protein of avian metapneumovirus that modulates cell-cell fusion. *Journal of Virology*, 2012, 86 (21) : 11800-11814.
- [20] Smith EC, Popa A, Chang A, Masante C, Dutch RE. Viral entry mechanisms: the increasing diversity of paramyxovirus entry. *Federation of European Biochemical Societies Journal*, 2009, 276 (24) : 7217-7227.
- [21] Krzyzaniak MA, Zumstein MT, Gerez JA, Picotti P, Helenius A. Host cell entry of respiratory syncytial virus involves macropinocytosis followed by proteolytic activation of the F protein. *PLoS Pathogens*, 2013, 9 (4) : e1003309. 2013. 07. 02
- [22] Zimmer G, Budz L, Herrler G. Proteolytic activation of respiratory syncytial virus fusion protein. Cleavage at two furin consensus sequences. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276 (34) : 31642-31650.
- [23] Gonzalez-Reyes L, Ruiz-Arguello MB, Garcia-Barreno B, Calder L, Lopez JA, Albar JP, Skehel JJ, Wiley DC, Melero JA. Cleavage of the human respiratory syncytial virus fusion protein at two distinct sites is required for activation of membrane fusion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98 (17) : 9859-9864.
- [24] Chang A, Hackett BA, Winter CC, Buchholz UJ, Dutch RE. Potential electrostatic interactions in multiple regions affect human metapneumovirus F-mediated membrane fusion. *Journal of Virology*, 2012, 86 (18) : 9843-9853.
- [25] Chang A, Masante C, Buchholz UJ, Dutch RE. Human metapneumovirus (HMPV) binding and infection are mediated by interactions between the HMPV fusion protein and heparan sulfate. *Journal of Virology*, 2012, 86 (6) : 3230-3243.
- [26] Cox RG, Livesay SB, Johnson M, Ohi MD, Williams JV. The human metapneumovirus fusion protein mediates entry via an interaction with RGD-binding integrins. *Journal of Virology*, 2012, 86 (22) : 12148-12160.
- [27] Porotto M, Palmer SG, Palermo LM, Moscona A. Mechanism of fusion triggering by human parainfluenza virus type III: communication between viral glycoproteins during entry. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287 (1) : 778-793.
- [28] Yin HS, Wen X, Paterson RG, Lamb RA, Jardetzky TS. Structure of the parainfluenza virus 5 F protein in its metastable, prefusion conformation. *Nature*, 2006, 439 (7072) : 38-44.
- [29] Swanson K, Wen X, Leser GP, Paterson RG, Lamb RA, Jardetzky TS. Structure of the Newcastle disease virus F protein in the post-fusion conformation. *Virology*, 2010, 402 (2) : 372-379.
- [30] Chen L, Gorman JJ, McKimm-Breschkin J, Lawrence LJ, Tulloch PA, Smith BJ, Colman PM, Lawrence MC. The structure of the fusion glycoprotein of Newcastle disease virus suggests a novel paradigm for the molecular mechanism of membrane fusion. *Structure*, 2001, 9 (3) : 255-266.
- [31] Yin HS, Paterson RG, Wen X, Lamb RA, Jardetzky TS. Structure of the uncleaved ectodomain of the paramyxovirus (hPIV3) fusion protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102 (26) : 9288-9293.
- [32] McLellan JS, Chen M, Leung S, Graepel K W, Du X, Yang Y, Zhou T, Baxa U, Yasuda E, Beaumont T, Kumar A, Modjarrad K, Zheng Z, Zhao M, Xia N, Kwong PD, Graham BS. Structure of RSV fusion glycoprotein trimer bound to a prefusion-specific neutralizing antibody. *Science*, 2013, 340 (6136) : 1113-1117.
- [33] McLellan JS, Yang Y, Graham BS, Kwong PD. Structure of respiratory syncytial virus fusion glycoprotein in the postfusion conformation reveals preservation of neutralizing epitopes. *Journal of Virology*, 2011, 85 (15) : 7788-7796.
- [34] Wen X, Krause JC, Leser GP, Cox RG, Lamb RA, Williams JV, Crowe JE, Jr Jardetzky TS. Structure of the human metapneumovirus fusion protein with neutralizing antibody identifies a pneumovirus antigenic site. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2012, 19 (4) : 461-463.
- [35] Iorio RM, Melanson VR, Mahon PJ. Glycoprotein interactions in paramyxovirus fusion. *Future Virology*, 2009, 4 (4) : 335-351.

Metapneumovirus expands the understanding of *Paramyxovirus* cell fusion—A review

Xiaoyu Liu¹, Xiaodong Zhang², Yongwei Wei^{3*}

¹ Medical college, Shaoxing University, Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China

² College of life sciences, Shaoxing University, Shaoxing 312000, Zhejiang Province, China

³ College of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, Zhejiang Province, China

Abstract: For most viruses in *Paramyxoviridae*, cell fusion requires both attachment protein and fusion protein. The attachment protein is responsible for the binding to its cognate receptors, while the interaction between fusion protein and attachment protein triggers the fusion protein which is responsible for the fusion. However, the *Metapneumovirus* fusion in *Pneumovirinae* subfamily displayed different mechanism where the attachment protein is not required. The cell fusion is accomplished by fusion protein alone without the help of the attachment protein. Recent studies indicate that low pH is required for cell fusion promoted by some hMPV strains. The fusion protein of aMPV type A is highly fusogenic, whereas that of type B is low. The original fusion models for *Paramyxovirus* cannot explain the phenomenon above. The mechanism to regulate the cell fusion of *Metapneumovirus* is poorly understood. It is becoming a hot spot for the study of cell fusion triggered by *Paramyxovirus* where it enlarged the traditional scope of *Paramyxovirus* fusion. In this review, we discuss the new achievements and advances in the understanding of cell fusion triggered by *Metapneumovirus*.

Keywords: *Metapneumovirus*, cell fusion, fusion protein

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the Project from Education Department of Zhejiang Province (Y201225839), by the Scientific and Technological Plan of Shaoxing (2011A22008) and by the Talent Grant from Ningbo University (013-E00827134702)

* Corresponding author. E-mail: virology001@gmail.com

Received: 2 July 2013 / Revised: 10 October 2013

1953 年创刊以来所有文章全文上网

从 2008 年 1 月开始《微生物学报》的所有文章开始全文上网了。欢迎广大读者登陆本刊主页 (<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>) 浏览、查询、免费下载全文! 由于《微生物学报》历史久远, 为方便读者查阅, 将刊期变化作以下统计。

《微生物学报》刊、期统计表

2014 年 4 月统计

时间	刊期	卷号	期号
1953 - 1956	半年刊	1 - 4	1 - 2
1957 - 1958	季刊	5 - 6	1 - 4
1959	季刊	7	1 - 2
1959 - 1962	停刊 3 年		
1962	季刊	8	3 - 4
1963 - 1965	季刊	9 - 11	1 - 4
1966	季刊	12	1 - 2
1966 - 1972	停刊 6 年半		
1973 - 1988	季刊	13 - 28	1 - 4
1989 - 2007	双月刊	29 - 47	1 - 6
2008 - 2013	月刊	48 - 53	1 - 12
2014	月刊	54	1 - 4