

DOI: 10.16505/j.2095-0136.2018.0028

· 综述 ·

硫酸乙酰肝素蛋白聚糖在人乳头瘤病毒感染中的作用

魏双萍¹, 柳欣林¹, 王大宁², 夏宁邵^{1,2}, 李少伟^{1,2}

1. 厦门大学国家传染病诊断试剂与疫苗工程技术研究中心 生命科学学院, 福建 厦门 361102;

2. 厦门大学分子疫苗学与分子诊断学国家重点实验室 公共卫生学院, 福建 厦门 361102

摘要: 人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 是一类无包膜的小 DNA 双链病毒, 其衣壳蛋白由主要衣壳蛋白 L1 和次要衣壳蛋白 L2 组成, 高危型 HPV 的持续感染是诱发宫颈癌的主要原因。HPV 吸附入胞伴随着由多种受体引起衣壳蛋白 L1 和 L2 的变构, 其中衣壳蛋白 L1 与细胞表面硫酸乙酰肝素蛋白聚糖 (heparan sulfate proteoglycans, HSPG) 之间的多重相互作用是病毒入胞的关键。经与 HSPG 相互作用后, HPV 衣壳蛋白 L2 暴露病毒与入胞受体结合位点, 进而介导病毒内吞入胞。因此, 阐述 HSPG 在 HPV 感染细胞中的作用有助于进一步阐明 HPV 感染机制及致病机制, 为 HPV 治疗性疫苗的研究提供一定的理论基础。本文就 HSPG 在 HPV 感染细胞中的作用进行综述。

关键词: 人乳头瘤病毒; 衣壳蛋白; 宫颈癌; 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖 (HSPG); 构象变化; 受体

中图分类号: R373.9 文献标识码: A 文章编号: 2095-0136 (2018) 04-0313-05

Research progress of heparan sulfate proteoglycan in the infection of human papillomavirus

WEI Shuang-ping*, LIU Xin-lin, WANG Da-ning, XIA Ning-shao, LI Shao-wei

* State Key Laboratory of Molecular Vaccinology and Molecular Diagnostics,

School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361102, China

Corresponding author: LI Shao-wei, E-mail: shaowei@xmu.edu.cn

Abstract: Human papillomavirus (HPV) is a small, non-enveloped, double-stranded DNA virus consisting of the major (L1) and minor (L2) capsid proteins. High-risk HPV persistent infection is the primary cause of cervical cancer. HPV binding and entry are accompanied by several receptor-induced conformational changes of proteins L1 and L2. The multiple interactions of heparan sulfate proteoglycan (HSPG) on the cell-surface with L1 protein is essential for the virus entry. After binding to HSPG, the virion undergoes conformational changes, exposure the N-terminal L2 protein and interaction with several receptors that induce internalization of HPV. Therefore, studies on the roles of HSPG in HPV infection will help to elucidate the mechanism and pathogenesis of HPV infection, and provide insights for the research of HPV therapeutic vaccine.

Key words: Human papillomavirus; Capsid protein; Cervical carcinoma; Heparan sulfate proteoglycan; Conformational changes; Receptor

人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 是一类双链 DNA 病毒, 能感染人黏膜和皮肤上皮细胞, 持续性感染 HPV 可导致包括女性宫颈癌、阴道癌、男性阴茎癌和尖锐湿疣等恶性 and 良性肿瘤相关疾病^[1]。据世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 统计数据显

示, 界范围内宫颈癌的死亡率在女性致死癌症中居第二位。HPV 型别众多, 目前已报道的型别约 200 多种, 根据其致癌能力的大小, 将 HPV 分为高危型和低危型。高危型 HPV 型别分布于 α 类中的 5、6、7、9 和 11 种, 如 HPV16、HPV18^[2], 感染高危型 HPV 能引起宫颈、阴道、外阴、阴茎和肛门等部位的上皮细胞癌变, 目前国内外已有多种 HPV 疫苗可有效预防病毒感染^[3-5]。

HPV 呈二十面体结构, 衣壳蛋白由主要衣壳蛋白 L1 和次要衣壳蛋白 L2 组成, L1 和 L2 在病毒感染过程中发挥重要作用, 其感染具有严格的种

基金项目: 国家自然科学基金 (31670935)

作者简介: 魏双萍, 硕士研究生, 主要从事人乳头瘤病毒研究工作

通讯作者: 李少伟, E-mail: shaowei@xmu.edu.cn

属特异性和组织特异性,只感染高度未分化的复层鳞状上皮细胞,包括口咽、手足表皮、肛门和生殖器^[6]等部分。如许多其他病原体一样,HPV 进入宿主细胞的过程是通过结合细胞表面附着因子引发的多步连锁反应,其中最常见附着因子是糖胺聚糖链,特别是蛋白聚糖中的硫酸乙酰肝素蛋白聚糖(heparan sulfate proteoglycans, HSPG)^[7-8]。HSPG 是由核心蛋白、葡糖氨基葡聚糖、多配体聚糖和磷脂酰肌醇聚糖组成的复合大分子,其中葡糖氨基葡聚糖由氨基糖和糖羧酸为基本单位组成,多配体聚糖和磷脂酰肌醇聚糖与糖胺聚糖共价连接^[9],是许多细胞中广泛存在的一类重要生物大分子,参与器官发生、血管再生、生长因子和细胞因子活动、伤口愈合、凝血机制和细胞黏附等一系列重要的生命活动。HSPG 也是许多病毒吸附感染过程中的第一受体,如登革病毒、疱疹病毒、呼吸道合胞病毒、人类免疫缺陷病毒、牛痘病毒等。在细胞表面,HSPG 主链上的多糖(氨基糖和糖羧酸)需要经过一些共价修饰,进而满足细胞生命活动的需要^[10]。本文就 HSPG 在 HPV 感染细胞中的作用做如下综述。

1 HPV 感染第一受体 HSPG 的发现

HPV 繁殖具有严格的组织特异性,其复制与基底细胞终末分化为角质形成细胞紧密相关^[11]。这种局限导致无法获得大量的真病毒用于 HPV 各项研究,而体外表达 HPV L1 蛋白和组装技术比较成熟,同时组装后的病毒样颗粒(virus-like particles, VLPs)在结构上与天然 HPV 衣壳蛋白高度相似,由此 HPV VLPs 为人们研究 HPV 与细胞之间的相互作用奠定基础^[12-16]。研究发现许多型别的 HPV VLP 都可以与细胞表面保守的蛋白受体结合^[17-19]。1989 年,Cardin 和 Weintraub 鉴定出肝素与氨基酸表面的 XBBXB 或 XBBBXXB 区域结合,B 为精氨酸或赖氨酸^[20];1999 年,Joyce 等^[8]利用不同分子量和硫酸化修饰的肝素分子以及肝素酶和肝素抑制剂验证了 HPV11 VLPs 可以与肝素发生相互作用并通过葡糖氨基葡聚糖与 HaCaT 细胞表面结合,第一次提出了 HSPG 是 HPV VLP 吸附 HaCaT 细胞的受体;同时分析比较 HPV L1 氨基酸序列发现 L1 的 C 末端存在 XBBBBXB 区域,实验验证该区域具有结合肝素的能力且对 HPV VLP 吸附细胞极其重要,与 Cardin 和 Weintraub 鉴定的序列几乎一致。2001 年,Girglou 等^[7]研究团队利用包裹 GFP 报告基因制备

的 HPV33 假病毒验证 HSPG 是 HPV 吸附感染细胞过程中主要的受体,研究表明肝素可以抑制 HPV33 假病毒感染 COS-7 细胞,而硫酸角质素和硫酸软骨素不能抑制 HPV33 假病毒感染,肝素酶可以彻底破坏假病毒感染细胞;HPV33 L1C 末端截断 8 个和 23 个氨基酸后仍可与肝素结合,这与 2000 年 Chen 等^[21]解析的 HPV16 L1 T=1 的结构比较吻合;与此同时,Combata 等^[22]也证实了 HSPG 是 HPV 感染细胞过程中必不可少的。

HSPG 的糖链在细胞膜表面存在多种修饰作用^[10],为了进一步研究 HSPG 在 HPV 吸附过程中的作用,Selinka 等^[23]使用不同方式硫酸化的肝素作为抑制剂,检测修饰后的 HSPG 对 VLP 和假病毒吸附细胞的影响。研究表明,HSPG 的 O 硫酸化是 HPV VLP 吸附和假病毒感染细胞所必需的,HSPG 去 N-硫酸化影响 HPV 假病毒感染,但不影响 HPV VLP 吸附细胞,即存在 HSPG O-硫酸化时,HSPG 是否发生 N-硫酸化对 VLP 吸附细胞也没有影响。从中可以看出,HSPG 在 HPV VLP 和 HPV 假病毒吸附细胞过程中的作用方式存在差异。Fligge 等^[24]发现这种差异是由于病毒或假病毒包裹 DNA 引起的。Selinka 等^[23,25]进一步分析这种差异对 HPV VLP (L1 或 L1+L2) 和 HPV 假病毒感染细胞的后续影响,流式细胞仪检测表明 VLP 吸附细胞 3.5 h 后 50% 的 VLP (L1 或 L1+L2) 发生内吞,平均内吞时间比假病毒短 4 h,进一步反映了病毒和 VLP (L1 或 L1+L2) 在细胞表面的活动存在明显的差异。入胞时间的差异可能与 VLP 和假病毒内吞的受体不同有关,VLPs 可能只需要 HSPG 介导内吞,而假病毒需要 L2 与其他受体进行作用并介导内吞^[26]。

上述研究揭示 HSPG 是 HPV 或假病毒吸附细胞的第一受体,在病毒感染过程中发挥重要作用。

2 HSPG 与 HPV 主要衣壳蛋白 L1 相互作用分析

Shafti-Keramat 等^[27]研究发现 HSPG 中的核心蛋白在 HPV 感染细胞过程中并没有发挥作用,而多糖分子是 HPV11、16、33 等感染细胞所必需的。Roden 等^[18]证明 HPV16 L1 L2 VLPs 与细胞的相互作用是通过 L1 进行的,这一现象揭示了 HPV L1 表面的碱性氨基酸与 HSPG 中带负电的硫酸基团相互作用。HPV VLP 与肝素相互作用需要完整的 HPV 环状表面结构,提示肝素与 HPV VLP 作用的表位是构象型^[23,28]。Knappe 等^[29]通过计算机预测和丙氨酸扫描分析得出 HPV16 五聚

体与 HSPG 寡糖的相互作用位点为 278K、356K 和 361K, 这三个赖氨酸突变后影响假病毒与细胞膜、细胞外基质或 HSPG 的结合, 进而影响假病毒感染细胞。为了进一步研究 HPV L1 与 HSPG 相互作用, Dasgupta 等^[30-31]解析了 HPV16 五聚体和 HPV18 五聚体与 HSPG 寡糖的复合物的晶体结构, 结构显示 HSPG 与 HPV L1 的相互作用位点分布在 BC、EF、FG、HI 和 $\alpha 4$ loop, 这一研究阐明了 HPV 与 HSPG 相互作用的结构基础。

在 2013 年, Richards 等^[32]根据 HPV 五聚体与肝素的相互作用位点和位点功能把 HPV L1 上 HSPG 结合位点分为三类: 位点 1 是 K278 和 K361, 这两个位点是 HSPG 结合的主要位点, 其功能是引起 L2 构象的改变, 暴露 L2 N 端关键功能位点, 该位点突变后影响与细胞膜或细胞外基质的结合; 位点 2 是 K54 和 K356, 这两个氨基酸的突变不影响病毒入胞, 但影响 L1 的构象变化, 使 L1 不经历变构而入胞并导致 L1 入胞后无法完成脱衣壳, 最终影响 L2 的释放并终止后续感染活动; 位点 3 是 N57、K59、K442 和 K443, 这些氨基酸突变后不影响 L1 和 L2 的变构但影响 HPV 入胞, 导致 HPV 假病毒无法入胞而聚集在细胞外基质中。根据 Richards 等研究结果可知, HSPG 在 HPV 感染过程中不但影响 HPV 衣壳蛋白 L1/L2 的变构, 而且还影响后续感染事件, 如暴露第二受体结合位点、转移 HPV 至内吞受体和脱衣壳等重要感染事件。HPV 在细胞外基质和细胞膜表面与 HSPG 相互作用过程, 需要经历多重的 HSPG 结合后才能成功地进入细胞并最终携带基因入核, 中间任何一个关键结合位点突变均会破坏 HPV 的感染。在 2016 年, Guan 等^[33]解析了分辨率为 4 的 HPV16-肝素复合物的冷冻电镜三维结构, 结构显示 HPV L1 BC 环的 57. Asn、58. Asn 和 59. Lys 以及 C 末端臂残基 428. Cys、429. Gln、431. His、432. Thr 和 433. Pro 与肝素发生相互作用。尽管有这些发现, 病毒感染的分子机制仍然难以捉摸, 部分原因是缺乏更高分辨率的结构信息^[34]。

3 HSPG 引起 HPV L1 和 L2 构象变化

病毒感染过程中发生构象变化是比较普遍的现象, 包括有膜病毒和无膜病毒, 如人类免疫缺陷病毒 (HIV)^[35]、脊髓灰质炎病毒^[36]和一些肠道病毒^[37]等。同样, HPV 在宿主进入和内吞过程中, 通过与细胞受体结合触发构象变化^[23,38-39]。Selinka 等^[23]利用不影响 HSPG 结合的构象敏感性抗体

HPV33. J3 进行前吸附 (病毒与抗体孵育后感染细胞) 和后吸附 (病毒吸附细胞后再与抗体进行反应) 中和研究, 根据 HPV 33. J3 前吸附和后吸附的中和效果推测 HPV 假病毒吸附细胞后发生构象变化, 首次提出了 HSPG 可以引起 HPV 衣壳蛋白 L1 的构象变化, 前吸附实验中 HPV 33. J3 对 HPV33 假病毒的中和能力较弱, 而 HPV33 假病毒与细胞结合 1 h 后, HPV33. J3 对病毒的中和能力显著提升, 这充分说明 HPV33 假病毒与细胞结合后 L1 表面 loop 发生构象转变, 使 HPV 33. J3 与 HPV33 假病毒亲和力提高且结合表位改变。HPV 33. J3 抗体表位位于 HPV31 L1 的 BC loop^[18], 可以推测 HSPG 可能引起 HPV L1 VLP 的 BC loop 发生构象变化。

Girglou 等^[40]利用多抗血清和肝素后吸附抑制假病毒感染细胞, 根据多抗血清和肝素阻碍 HPV33 假病毒感染的时间点差异揭示了 HPV33 假病毒吸附细胞后在细胞表面发生构象变化: 由肝素敏感型向肝素抵制型转变, 这种构象的转变使 HPV L1 与 HSPG 的亲和力下降, 并促使 HPV 向下一个受体移动, 提示了 HPV 假病毒感染过程中存在“第二受体”。许多病毒在感染过程中也遵循这种机制, 如疱疹病毒、巨细胞病毒、人类免疫缺陷病毒、腺病毒 2 和 5、登革病毒和牛痘病毒等。2016 年 Guan 等^[33]通过分析 HPV 和 HPV-肝素复合物的低温电镜三维结构, 发现肝素结合后病毒的 BC 和 EF loop 结构可能发生轻微变化。目前, 细胞表面的 HSPG 与 L1 的作用机制及 L1 构象变化机制还没有解释清楚, 但 HSPG 可以使 HPV 或假病毒的衣壳由紧凑向蓬松转变, 为暴露 L2 的表位和入胞后脱衣壳奠定基础。

HPV 与 HSPG 相互作用后引起 L1 构象变化并导致 L2 N 端弗林酶酶切位点暴露, 酶切后病毒进一步与细胞膜表面的一系列入胞受体发生相互作用, 最终由网格蛋白介导内吞入胞。由于 HPV 衣壳蛋白与 HSPG 相互作用后, 其蓬松的结构易于被胞内体中低 pH 环境所破坏, 最终导致颗粒崩解, L1 蛋白被酶水解, L2 蛋白携带病毒基因组从胞内体中逃逸, 并在肌动蛋白的协助下将基因组送入细胞核中, 完成病毒的感染过程。

4 总结

HPV 感染细胞是由细胞表面和胞内多种受体引发的多步连锁反应, 其中细胞表面最常见的受体是 HSPG, HSPG 是 HPV 吸附细胞的第一受体,

在病毒感染过程中发挥重要作用, HSPG 在病毒感染细胞的过程中存在多种修饰作用, 而硫酸化是 HPV VLP 吸附和假病毒感染所必需的。同时 HSPG 在 HPV 感染中引起 HPV 衣壳蛋白 L1/L2 的变构, 使病毒的结构发生轻微的变化, 但并不影响衣壳的直径, 而结构的变化决定后续感染过程, 如暴露第二受体结合位点、转移 HPV 至内吞受体和脱衣壳等重要感染事件。而 HPV 型别众多, 不同型别 HPV 感染细胞的机制存在一定的差异, 这些差异还有待进一步分析, 以完善 HPV 病毒学研究。

参考文献

- [1] Cubie HA. Diseases associated with human papillomavirus infection [J]. *Virology*, 2013, 445 (1/2): 21-34.
- [2] De Villiers EM. Cross-roads in the classification of papillomaviruses [J]. *Virology*, 2013, 445 (1/2): 2-10.
- [3] Joura EA, Giuliano AR, Iversen OE, *et al.* A 9-valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372 (8): 711-723.
- [4] Skinner SR, Szarewski A, Romanowski B, *et al.* Efficacy, safety, and immunogenicity of the human papillomavirus 16/18 AS04-adjuvanted vaccine in women older than 25 years: 4-year interim follow-up of the phase 3, double-blind, randomised controlled VIVIANE study [J]. *Lancet*, 2014, 384 (9961): 2213-2227.
- [5] Wu T, Hu YM, Li J, *et al.* Immunogenicity and safety of an *E. coli*-produced bivalent human papillomavirus (type 16 and 18) vaccine: a randomized controlled phase 2 clinical trial [J]. *Vaccine*, 2015, 33 (32): 3940-3946.
- [6] Doorbar J, Quint W, Banks L, *et al.* The biology and life-cycle of human papillomaviruses [J]. *Vaccine*, 2012, 30 Suppl 5: F55-F70.
- [7] Giroglou T, Florin L, Schafer F, *et al.* Human papillomavirus infection requires cell surface heparan sulfate [J]. *J Virol*, 2001, 75 (3): 1565-1570.
- [8] Joyce JG, Tung JS, Przysiecki CT, *et al.* The L1 major capsid protein of human papillomavirus type 11 recombinant virus-like particles interacts with heparin and cell-surface glycosaminoglycans on human keratinocytes [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274 (9): 5810-5822.
- [9] Sarrazin S, Lamanna WC, Esko JD. Heparan sulfate proteoglycans [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2011, 3 (7): pii: a004952.
- [10] Esko JD, Lindahl U. Molecular diversity of heparan sulfate [J]. *J Clin Invest*, 2001, 108 (2): 169-173.
- [11] Aksoy P, Gottschalk EY, Meneses PI. HPV entry into cells [J]. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 2017, 772: 13-22.
- [12] Zhou J, Sun XY, Stenzel DJ, *et al.* Expression of vaccinia recombinant HPV 16 L1 and L2 ORF proteins in epithelial-cells is sufficient for assembly of HPV virion-like particles [J]. *Virology*, 1991, 185 (1): 251-257.
- [13] Kirnbauer R, Booy F, Cheng N, *et al.* Papillomavirus L1 major capsid protein self-assembles into virus-like particles that are highly immunogenic [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89 (24): 12180-12184.
- [14] Hagensee ME, Yaegashi N, Galloway DA. Self-assembly of human papillomavirus type-1 capsids by expression of the L1 protein alone or by coexpression of the L1 and L2 capsid proteins [J]. *J Virol*, 1993, 67 (1): 315-322.
- [15] Rose RC, Bonnef W, Reichman RC, *et al.* Expression of human papillomavirus type 11 L1 protein in insect cells: *in vivo* and *in vitro* assembly of viruslike particles [J]. *J Virol*, 1993, 67 (4): 1936-1944.
- [16] Volpers C, Schirmacher P, Streeck RE, *et al.* Assembly of the major and the minor capsid protein of human papillomavirus type-33 into virus-like particles and tubular structures in insect cells [J]. *Virology*, 1994, 200 (2): 504-512.
- [17] Muller M, Glssmann L, Cristiano RJ, *et al.* Papillomavirus capsid binding and uptake by cells from different tissues and species [J]. *J Virol*, 1995, 69 (2): 948-954.
- [18] Roden RBS, Kirnbauer R, Jenson AB, *et al.* Interaction of papillomaviruses with the cell-surface [J]. *J Virol*, 1994, 68 (11): 7260-7266.
- [19] Volpers C, Unckell F, Schirmacher P, *et al.* Binding and internalization of human papillomavirus type-33 virus-like particles by eukaryotic cells [J]. *J Virol*, 1995, 69 (6): 3258-3264.
- [20] Cardin AD, Weintraub HJR. Molecular modeling of protein-glycosaminoglycan interactions [J]. *Arteriosclerosis*, 1989, 9 (1): 21-32.
- [21] Chen XJS, Garcea RL, Goldberg I, *et al.* Structure of small virus-like particles assembled from the L1 protein of human papillomavirus 16 [J]. *Molecular Cell*, 2000, 5 (3): 557-567.
- [22] Combata AL, Touze A, Bousarghin L, *et al.* Gene transfer using human papillomavirus pseudovirions varies according to virus genotype and requires cell surface heparan sulfate [J]. *Fems Microbiol Let*, 2001, 204 (1): 183-188.
- [23] Selinka HC, Giroglou T, Nowak T, *et al.* Further evidence that papillomavirus capsids exist in two distinct conformations [J]. *J Virol*, 2003, 77 (24): 12961-12967.
- [24] Fligge C, Schafer F, Selinka HC, *et al.* DNA-induced structural changes in the papillomavirus capsid [J]. *J Virol*, 2001, 75 (16): 7727-7731.
- [25] Selinka HC, Giroglou T, Nowak T, *et al.* Further evidence that papillomavirus capsids exist in two distinct conformations [J]. *J Virol*, 2003, 77 (24): 12961-12967.
- [26] Krauzewicz N, Stokrova J, Jenkins C, *et al.* Virus-like gene transfer into cells mediated by polyoma virus pseudocapsids [J]. *Gene Ther*, 2000, 7 (24): 2122-2131.
- [27] Shafti-Keramat S, Handisurya A, Kriehuber E, *et al.* Different heparan sulfate proteoglycans serve as cellular receptors for human papillomaviruses [J]. *J Virol*, 2003, 77

- (24): 13125-13135.
- [28] Rommel O, Dillner J, Fligge C, *et al.* Heparan sulfate proteoglycans interact exclusively with conformationally intact HPV L1 assemblies; basis for a virus-like particle ELISA [J]. *J Medl Virol*, 2005, 75 (1): 114-121.
- [29] Knappe M, Bodevin S, Selinka HC, *et al.* Surface-exposed amino acid residues of HPV16 L1 protein mediating interaction with cell surface heparan sulfate [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282 (38): 27913-27922.
- [30] Dasgupta J, Bienkowska-Haba M, Ortega ME, *et al.* Structural basis of oligosaccharide receptor recognition by human papillomavirus [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286 (4): 2617-2624.
- [31] Dasgupta J, Bienkowska-Haba M, Ortega ME, *et al.* Structural basis of oligosaccharide receptor recognition by human papillomavirus [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286 (4): 2617-2624.
- [32] Richards KF, Bienkowska-Haba M, Dasgupta J, *et al.* Multiple heparan sulfate binding site engagements are required for the infectious entry of human papillomavirus type 16 [J]. *J Virol*, 2013, 87 (21): 11426-11437.
- [33] Guan J, Bywaters SM, Brendle SA, *et al.* Cryoelectron microscopy maps of human papillomavirus 16 reveal L2 densities and heparin binding site [J]. *Structure*, 2017, 25 (2): 253-263.
- [34] Li Z, Wang D, Gu Y, *et al.* Crystal structures of two immune complexes identify determinants for viral infectivity and type-specific neutralization of human papillomavirus [J]. *MBio*, 2017, 8 (5): pii: e00787-17.
- [35] Furuta RA, Wild CT, Weng YK, *et al.* Capture of an early fusion-active conformation of HIV-1 gp41 [J]. *Nat Struct Biol*, 1998, 5 (7): 276-279.
- [36] Fricks CE, Hogle JM. Cell-induced conformational change in poliovirus-externalization of the amino terminus of Vp1 is responsible for liposome binding [J]. *J Virol*, 1990, 64 (5): 1934-1945.
- [37] Jimenez-Clavero MA, Escribano-Romero E, Douglas AJ, *et al.* The N-terminal region of the VP1 protein of swine vesicular disease virus contains a neutralization site that arises upon cell attachment and is involved in viral entry [J]. *J Virol*, 2001, 75 (2): 1044-1047.
- [38] Abban CY, Meneses PI. Usage of heparan sulfate, integrins, and FAK in HPV16 infection [J]. *Virology*, 2010, 403 (1): 1-16.
- [39] Kines RC, Thompson CD, Lowy DR, *et al.* The initial steps leading to papillomavirus infection occur on the basement membrane prior to cell surface binding [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106 (48): 20458-20463.
- [40] Girglou T, Florin L, Schafer F, *et al.* Human papilloma-virus infection requires cell surface heparan sulfate [J]. *J Virol*, 2001, 75 (3): 1565-1570.

收稿日期:2017-11-01 修回日期:2018-02-05 责任编辑:刘磊

论文撰写规范

图位: 以排于首次提及的相应正文所在自然段落后为宜, 或简单集中于文末。

插图宽度: 以占一栏或两栏宽度为宜, 图旁一般不串文。病理(组织)切片图应注明染色方法、放大或缩小倍数, 插图为黑白图, 若需作彩色图, 应注明, 并另付制作彩色图的制版费。插图应具有自明性。

座标图: 纵横座标轴的标目均应平行排在标轴外, 纵轴标目以“顶左底右”排。标目由物理量名称、符号和相应单位组成。量与单位间用斜线隔开。座标轴上应标明标值线(刻度线)和标值, 否则, 应在座标轴尾端画出箭头。

图题: 一律排在图下方。图序号使用阿拉伯数字, 全文从“1”开始连续编码, 只有 1 幅图也应编 1。插图必须具有自明性。

图中注释或说明语均放于图与图题之间。