

· 综 述 ·

## TSG101 蛋白在 HIV-1 出芽过程中的作用及其抑制剂

陈洪飞, 刘新泳\*

(山东大学 药学院 药物化学研究所, 山东 济南 250012)

**摘要:** *tsg101* 基因是一个抑制肿瘤基因, 其翻译产物 TSG101 蛋白具有多重生物学功能。近年来的研究发现, TSG101 蛋白通过与 HIV-1 Gag 蛋白结合, 辅助 HIV-1 病毒颗粒从被感染细胞中释放出来, 这说明 TSG101 可作为一个新的抗 HIV-1 靶点。基于 TSG101 蛋白与 HIV Gag 的相互作用和结构, 研究人员设计合成了几类 TSG101 蛋白抑制剂, 并通过测定这些抑制剂对 TSG101 蛋白的亲合力, 发现其中某些化合物具有比野生型 Gag 更强的 TSG101 蛋白亲合力, 值得进一步研究。

**关键词:** TSG101; HIV-1; UEV; Gag; 出芽

**中图分类号:** R916      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0513-4870(2008)12-1165-06

## The action of TSG101 on HIV-1 budding and related inhibitors

CHEN Hong-fei, LIU Xin-yong\*

(Institute of Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Shandong University, Jinan 250012, China)

**Abstract:** *tsg101* gene is a newly found tumor suppressor gene whose product TSG101 has many important biological functions. Recent research of TSG101 has revealed that TSG101 aids HIV-1 budding from infected cells by attaching to Gag. HIV-1 budding is arrested in the cells with mutant TSG101 or without TSG101. So TSG101 would be a useful target for anti-HIV drug design. Now there is already some research on anti-HIV agents based on TSG101 structure. In this article the structure and function of TSG101 as well as the related inhibitors were reviewed.

**Key words:** TSG101; HIV-1; UEV; Gag; budding

*tsg101* 基因最早是由 Li 等<sup>[1]</sup> 在鼠成纤维细胞 3T3 中发现的, 因具有抑制肿瘤的功能, 被命名为肿瘤易感基因 101 (tumor suppressor gene 101, *tsg101*)。该基因的表达产物 TSG101 蛋白是细胞内涵体分选复合物 (host cell endosomal sorting complex, ESCRT-I) 的组成部分, TSG101 蛋白在细胞蛋白分选途径中起着重要作用, 是细胞正常生理功能必须的, 其表达过多或过少都会影响细胞的正常生命活动。近年来的研究发现, HIV-1 病毒在其生命周期的末期, 通过招募宿主细胞 TSG101 蛋白并进而招募其他蛋白质分选途径中的蛋白, 构成一个复杂的装置, 用于辅助其自身从被感染细胞中出芽释放。若

人为耗尽 HIV-1 病毒感染细胞中的 TSG101 蛋白, 则病毒颗粒将被阻滞在质膜中无法出芽<sup>[2]</sup>。这表明, TSG101 蛋白对于 HIV-1 释放传播是必不可少的。基于 TSG101 的结构和作用, 设计合成相应抑制剂, 是从细胞自身蛋白入手切断 HIV-1 生命周期, 对高度变异的 HIV-1 病毒将产生广泛的抑制作用。

### 1 TSG101 蛋白的结构

人类 TSG101 蛋白是由 *tsg101* 基因编码的。该基因位于人类 11 号染色体 p15.1-p15.2<sup>[3]</sup>, 通过转录翻译, 生成含有 390 个氨基酸残基、相对分子质量为 46 kDa 的人 TSG101 蛋白<sup>[4,5]</sup>。

TSG101 蛋白是细胞内涵体分选复合物 1 (host cell endosomal sorting complex-I, ESCRT-I) 的组成部分。ESCRT-I 是一个多蛋白复合体, 由数个蛋白质组成, 在细胞蛋白质分选途径中起着必要作用。人

收稿日期: 2008-05-04.

\* 通讯作者 Tel: 86-531-88380270, Fax: 86-531-88382548,  
E-mail: xinyongl@sdu.edu.cn

类 ESCRT-I 由 4 个亚基组成: TSG101、VPS28、VPS37 (A/B/C/D) 及新发现的蛋白 MVB12 (A/B)<sup>[6]</sup>。TSG101 的 C 末端与组成 ESCRT-I 的其他蛋白结合, 这种作用被认为提供了 ESCRT-I 复合物的核心稳定性<sup>[6,7]</sup>。

人类 TSG101 蛋白的二级结构包含 3 个独立的功能域<sup>[4,8]</sup>: ① TSG101 蛋白的 N 端 UEV 区域; ② 具有转录因子特征的 3 个 DNA 结合基元, 此区是转录调控的活性区域; ③ TSG101 蛋白的 C 端保守序列 SB 区 (steadiness box domain), 如图 1 所示。



图 1 TSG101 蛋白<sup>[9]</sup>

TSG101 的 C 末端调节病毒晚期颗粒的释放, 其 N 末端则可能被 Gag p6 招募, 与其富脯氨酸序列 [P (T/S)AP] 结合, 以协助病毒颗粒从病毒感染细胞中释放出来。TSG101 蛋白的 N 端与泛素连接酶催化区 (UBC) 具有明显的同源性, 称为 UEV 区域。由于与泛素连接酶活性区对应部位的半胱氨酸被酪氨酸取代, TSG101 的 UEV 区缺少连接酶活性, 但仍可结合泛素<sup>[10]</sup>。TSG101 UEV 区是由 4 个反向平行的  $\beta$ -带和 4 个  $\alpha$ -螺旋构成, 4 个  $\beta$ -带形成了一个片层结构, 4 个  $\alpha$ -螺旋位于  $\beta$ -片层的对面, 与之形成嵌合。TSG101 UEV 区域的前两个  $\beta$ -带的位置与两个已知结构的 E2 蛋白——Ubc13 和 Mms2 的差别很大, 其  $\beta$ -带 1 (S1) 扭曲并移向  $\beta$ -带 2 (S2) 的 N 末端, 这两条带形成了一个“舌头”状结构 (tongue), 这个舌头状结构也保证了 TSG101 UEV 的 N 末端螺旋和  $\beta$ -片层的广泛的嵌合作用, 如图 2 所示。

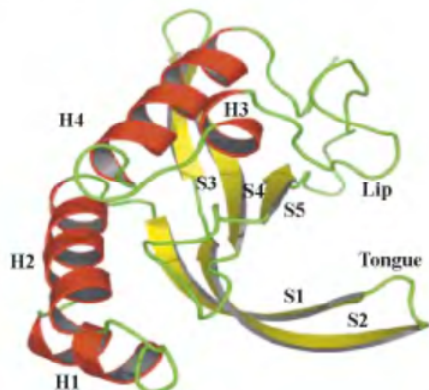


图 2 人类 TSG101 蛋白晶体结构的带状图示<sup>[11]</sup>

通过研究 TSG101 UEV 区与 HIV p6 蛋白及其某些突变体或片段的亲和力, 发现一个穿过 Gag p6 区 [P(T/S)AP] 序列的九肽片段 (<sub>5</sub>P-E-P-T-A-P-P-E-E<sub>13</sub>) 和 TSG101 UEV 结合的亲和力与完整长度的 p6 蛋白和 TSG101 UEV 结合的亲和力非常接近, 而且其结合后的化学位移变化也与完整的 p6 蛋白结合后的化学位移变化几乎相等, 可以得出结论: [P(T/S)AP] 序列包含了所有与 TSG101 蛋白结合相关联的氨基酸残基<sup>[12]</sup>。

利用核磁共振技术对 TSG101 UEV 和 HIV-1 PTAP 的复合物进行结构分析, 发现 HIV-1 病毒 PTAP 序列结合 UEV 于其 S2-S3 之间的疏水凹槽、N 末端 S4 和 H3 之间的第三个大环和 C 末端的 H4<sup>[10]</sup>。在 TSG101 蛋白的氨基酸残基和 PTAP 序列的 4 个氨基酸残基之间有着广泛的疏水相互作用和氢键作用。PTAP 序列的第一个脯氨酸 (九肽片段 P<sub>7</sub>) 结合在一个由 TSG101 蛋白的残基 Thr58、Pro71、Thr92 和 Met95 构成的小沟槽内; Ala<sub>9</sub>-Pro<sub>10</sub> 则结合在一个由 TSG101 残基 Tyr63 和 Tyr68 等构成的较深的口袋中<sup>[13]</sup>。TSG101-PTAP 结合面和其他多聚脯氨酸配体与 WW 结构域或 SH3 结构域结合面相比有明显的相似性, 稍有不同的是, 在 TSG101-PTAP 相互作用中, 脯氨酸之间的“链接” (Thr 和 Ala) 也是参与相互作用的显著因子。这说明改变 PTAP 4 个残基中的任何一个都可能显著地影响 TSG101-PTAP 相互作用。因此, 若以 [P(T/S)AP] 序列为母体, 以氨基酸类似物替换其中与 TSG101 蛋白结合作用相关的关键氨基酸残基, 可能会获得与 TSG101 亲和力更强的类肽片段, 若能特异性地结合 TSG101 并且不影响细胞正常生理功能, 将会是抗 HIV 药物研究领域的一个新的突破。

TSG101 UEV 区域尚能结合泛素, 结合位点在 UEV  $\beta$ -片层结构的周围, 与 PTAP 模序结合位置不同, 两者在 TSG101 蛋白上的结合互不干扰, 研究者将 p6 与泛素直接融合起来, 发现与 TSG101 蛋白的结合能力比任何一个单独结合的结合能力都要强, 说明它们同时结合到 TSG101 蛋白上的过程具有协同作用<sup>[9]</sup>。

## 2 HIV-1 病毒出芽过程中 TSG101 蛋白的作用

HIV-1 病毒颗粒包含 3 种必要的结构蛋白, 其中 Gag 蛋白是含量最丰富的蛋白质, 大约构成了病毒结构蛋白的 85%, 而且是在病毒颗粒形成过程中唯一必需的蛋白质, Gag 蛋白在质膜中的装配过程是 HIV-1 病毒颗粒生产的驱动力<sup>[11]</sup>。

HIV-1 Gag 蛋白是由 4 个性质的区域组成,在病毒的装配和出芽过程中分别执行不同的功能。在成熟过程中,由病毒蛋白酶将 Gag 前体蛋白剪切为 6 部分,包括两个间隔蛋白 SP1、SP2 和 4 个离生区域: N-豆蔻酰化 MA 区域、CA、NC 及 p6 区域<sup>[11,14]</sup>,其中 MA、CA 和 NC 构成了成熟的 Gag 蛋白<sup>[15]</sup>。Gag 蛋白 p6 区域通过其 L 区将宿主内涵体分选装置招募到质膜上,辅助它从感染细胞中释放出来。

人类 ESCRT-I 是内涵体分选装置的组成部分,内涵体分选装置在人体正常生理活动中,参与泛素化的蛋白的降解和多泡体 (multivesicular body, MVB) 的生物发生<sup>[7]</sup>。在正常细胞的早期内涵体中,结合于内涵体膜上的欲降解蛋白负载与肝细胞生长因子调节酪氨酸激酶底物 (hepatocyte growth factor-regulated tyrosine kinase substrate, Hrs) 发生相互作用,进而通过 Hrs 与 TSG101 结合,招募 ESCRT-I 到内涵体膜上,结合到欲降解蛋白上的 ESCRT-I 继而招募 ESCRT-II 和 ESCRT-III 到内涵体膜上,以辅助欲降解蛋白进入内涵体。在形成膜内陷后,在 AAA ATPase 的催化下,ESCRT 复合物解散开来<sup>[16]</sup>。在 HIV-1 出芽中,内涵体分选装置被病毒蛋白上的特定序列招募到病毒出芽位点,辅助病毒出芽,这一过程与欲降解蛋白进入内涵体的过程在局部解剖学上具有同源性<sup>[6]</sup>,HIV Gag p6 蛋白 L 区模拟 Hrs 与 TSG101 结合,并触发 ESCRT 复合物的构建。

Gag 蛋白 p6 L 区包含一个短的富脯氨酸保守序列 [P(T/S)AP], [P(T/S)AP] 与 TSG101 结合于 TSG101 蛋白的 N 末端 UEV 区域,在 TSG101 蛋白的 UEV 区域 S2-S3 之间有一个疏水性的沟槽,靠近泛素在 TSG101 上的结合位点,在泛素连接酶中,这个沟槽是被一个 C 端螺旋占据的,而 TSG101 中不存在这个 C 端螺旋,PTAP 得以结合进去。通过 Gag 蛋白 p6 区与 TSG101 蛋白的结合,ESCRT-I 被招募到质膜上。ESCRT-I 继而招募 ESCRT-II 到质膜上。Gag 蛋白的 p6 区还能结合细胞蛋白 AIP1/ALIX, AIP1 蛋白也具有一个包含保守的 PSAP 模序的富脯氨酸区域(残基 717-720),TSG101 蛋白 UEV 区域即通过结合该富脯氨酸区域招募 AIP1 蛋白,而 AIP1 能特异性地结合 ESCRT-III 的 CHMP4 蛋白,从而将 ESCRT-III 招募到质膜上,形成一个复杂的细胞蛋白装置<sup>[17]</sup>,如图 3 所示。由此装置帮助 HIV-1 病毒出芽释放。

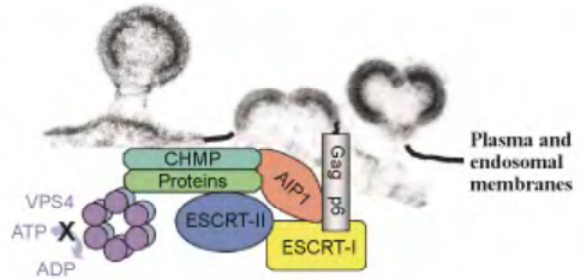


图 3 HIV 出芽时形态<sup>[17]</sup>

在 HIV 出芽的最后阶段,ESCRT-III 组成部分 CHMP3 多聚化,形成一个弯曲的蛋白质格点<sup>[18]</sup>,使包含着病毒颗粒的部分质膜形成囊泡,最终质膜裂变<sup>[19,20]</sup>,囊泡被切断进入 MVB, MVB 与细胞膜融合,病毒颗粒释放出来。ESCRT-III 的 CHMP 蛋白可以与细胞蛋白 AAA-type ATPase VPS4 直接结合,将 VPS4 招募到 ESCRT 复合物上,VPS4 利用其 ATP 酶活性水解 ATP 为 ADP,所得能量将 ESCRT 装置解离开来,循环利用<sup>[21]</sup>。

### 3 TSG101 蛋白抑制剂的研究

#### 3.1 TSG101 蛋白抑制剂的设计

根据现有的研究可知,HIV-1 通过其 Gag 蛋白与 TSG101 蛋白相互作用来辅助自身的释放。若设计一种与 Gag 蛋白 PTAP 序列类似的、能特异性地靶向于 TSG101 的化合物,使它与 HIV-1 Gag 竞争 TSG101,可以对 HIV-1 的出芽形成拮抗作用。

p6 区域 PTAP 模序中包含一个九肽序列(5-P-E-P-T-A-P-P-E-E<sub>13</sub>),其核磁共振的化学位移与全长的 p6 一样,与 TSG101 UEV 区域的结合能力也与全长的 p6 一样。可以确定,该多肽包含了所有能结合 TSG101 蛋白的残基。通过对该九肽与 TSG101 结合的复合结构的 NMR 分析发现,最重要的相互作用是基于九肽序列的“Ala5 - Pro6”残基,这两个氨基酸残基结合在 UEV 疏水腔的深处<sup>[22]</sup>。若将该脯氨酸以其类似物取代,如 N 取代甘氨酸 (NSG, N-substituted glycine),或者插入酰胺等,可能获得比母体九肽更强的 TSG101 亲和力,可以作为 Gag p6 的竞争抑制剂。

#### 3.2 TSG101 蛋白的抑制剂

##### 3.2.1 胺类和酰胺类肽的设计合成及其活性研究

NSG 是一类重要的多肽类似物,保持了生物活性,然而显示出对蛋白酶水解作用的抵抗力。包含 NSG 残基的多肽或类肽的嵌合体也表现出了显著

的可用性。某些信号区域能特异性地识别富含脯氨酸的序列,而相对原本含脯氨酸的母体多肽,NSG取代的类肽可以提供更大的选择性和亲和力。

Liu 等<sup>[22]</sup> 起初用 NSG 取代九肽 P-E-P-T-A-P-P-E-E 中的 Pro6 的方法,制备基于 PTAP 的 TSG101 抑制剂。固相合成含 NSG 的化合物库的常用方法是亚单体(submonomer)法。亚单体法是将欲延长的氨基酸链的氨基端溴乙酰化,然后与胺类反应得到相应的 NSG。这种方法的缺点是不适于合成的或难合成的链。事实证明,将九肽 P-E-P-T-A-P-P-E-E 转变成 P-E-P-T-A-[NSG]-P-E-E 有困难,因为该部位空间阻力大。研究人员试用酰肼作为前体代替 NSG 来合成类肽以克服此困难。先合成含酰肼的前体(酰肼基团在合成过程中保护起来),然后酰肼基团脱保护,并与醛反应,反应方法如图 4 所示。

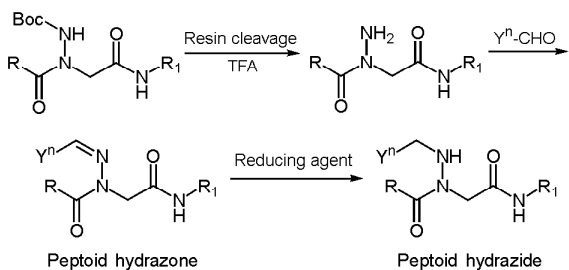


图 4 从普通的酰肼前体合成胺类类肽或酰肼类类肽<sup>[22]</sup>

用于合成化合物库时,插入酰肼要比传统的 N-烷基 NSG 更优越,因为: ① 整个 N 端 NSG 残基序列中的每个不同的 NSG 都要单独进行精巧的设计,而类肽胺化合物库的合成可以通过一个已经合成的母体化合物(具有一个未取代的酰肼基团)与一系列的醛反应得到; ② 插入酰肼的合成方法得到的化合物的结构多样性是在最后一步产生的,更容易合成大量化合物; ③ 用这种方法合成的化合物具备 NSG 中没有的性质。

研究者以类氨基酸取代九肽序列中的关键脯氨酸 Pro<sub>10</sub>,设计合成了一个“FTP-P-E-P-T-A-X-P-E-E-amide”系列,X 代表一系列氨基酸残基,基本骨架是甘氨酸,通过变换 N 上取代基得到不同类型化合物。芳香族和脂肪族的醛与得到的多肽的未取代的酰肼基团反应,得到了系列化合物。利用 FTP(氨基端荧光疏脲正戊酰氯)的荧光各向异性,分析合成的化合物对 TSG101 结合能力<sup>[22]</sup>。

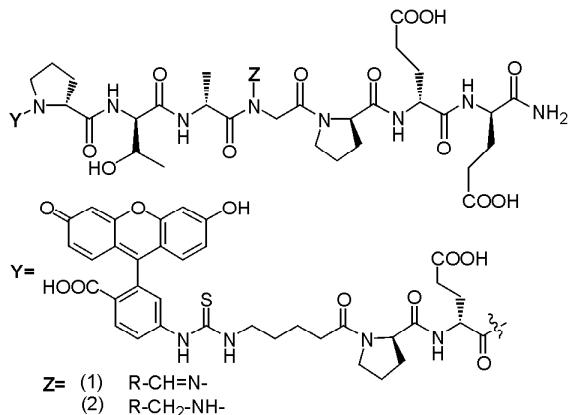
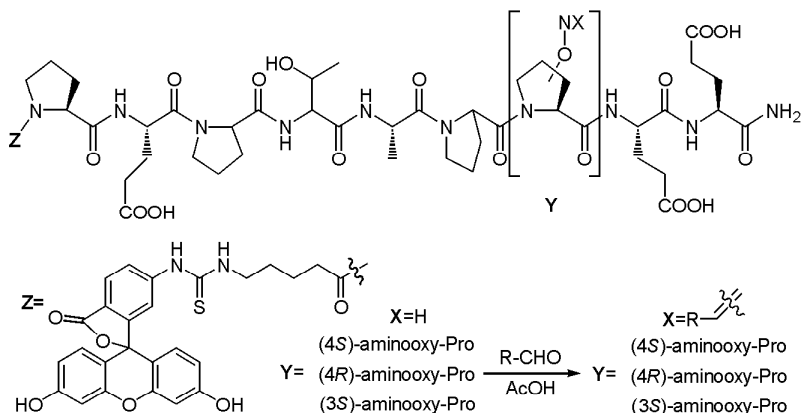


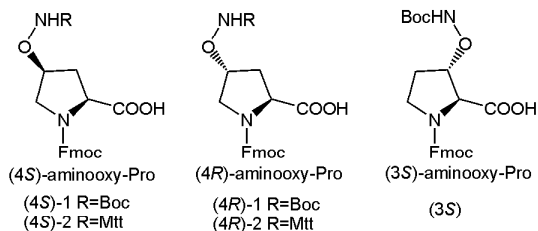
图 5 胺类和酰肼类类肽化合物<sup>[22]</sup>

当图中 Z 为 R-CH=N- 时,得到胺类化合物,Z 为 R-CH<sub>2</sub>-NH- 时,得到酰肼类化合物,Z 上的取代基 R 可以为苯基、取代苯基、吡咯环、咪唑环、苄基、烷基等。测定所合成的化合物与 TSG101 的亲和力,发现胺类化合物中取代基 R 为丙基的化合物与 TSG101 亲和力最强 [ $K_d = (9.83 \pm 1.25) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ],与野生型 PTAP [ $K_d = (53.5 \pm 6.48) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ] 相比,亲和力达到了母体化合物的 5 倍以上,酰肼类化合物中取代基 R 为甲基硫基丙基的化合物的 TSG101 亲和力最强,为 [ $K_d = (25.27 \pm 8.06) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ],约为母体九肽化合物的 2 倍。两类化合物 Z 上取代基 R 为芳环时亲和力不高,甚至低于母体九肽化合物的 TSG101 亲和力。这表明,当以取代甘氨酸替代 Pro<sub>10</sub> 时,N 上取代基的体积较小、长度为 3~5 个碳原子的直链烷基或直链的取代烷基活性为好,体积大的芳基则活性较差。可能其结合部位——由 TSG101 残基 Tyr<sub>63</sub> 和 Tyr<sub>68</sub> 等构成的口袋空腔较狭窄,不适于芳环进入,而直链的烷基则能很好地结合。

**3.2.2 脯氨酸-脲类类肽的设计合成及活性研究**  
为增加 TSG101 蛋白抑制剂化合物库的多样性,研究者欲以 3 位或 4 位取代的脯氨酸衍生物取代野生型 PTAP 的脯氨酸,试图得到 TSG101 亲和力强的抑制剂。然而,带有这些脯氨酸衍生物的多肽的合成受到了限制,因为每个脯氨酸衍生物都需要在肽合成以前保护。但若预先将这些 3 位或 4 位做成氨基,并将氨基用适当的方法保护,合成多肽后,脱保护,然后在氨基上引入基团,可以提高效率。研究者合成了几个由氨基保护基团 Fmoc 或 Boc 等正交保护的脯氨酸衍生物,用以合成 TSG101 靶向

图7 脯氨酸-lysine类肽化合物<sup>[23]</sup>

多肽。脯氨酸衍生物的合成方法是以商品化的(4*R*)-4-hydroxy-*L*-proline为起始物,经过数步反应,得到带有Fmoc和Boc保护,或带有Fmoc和Mtt保护的含氨基的三种脯氨酸类似物,以其氨基的取代位置及构象分别取代号为(4*S*)-aminoxy-Pro,(4*R*)-aminoxy-Pro,(3*S*)-aminoxy-Pro(图6)。

图6 正交保护的脯氨酸类似物<sup>[23]</sup>

利用这三种氨基已保护的脯氨酸类似物取代九肽P-E-P-T-A-P-P-E-E的Pro<sub>11</sub>,然后将氨基脱保护之后与一系列芳香醛或脂肪醛R-CHO反应,得到三类脯氨酸-lysine类肽化合物,如图7所示。所用的醛R-CHO的R基包括直链烷基、芳基等。测定所得的三类化合物对TSG101的亲合力,其中亲合力最高的化合物为由(3*S*)-aminoxy-Pro合成的,R基为4-羟基-3-羧基苯基的化合物( $K_d = 11 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),显示出比野生型PTAP [ $K_d = (53.5 \pm 6.48) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ]高5倍的亲合力,而由(4*S*)-aminoxy-Pro合成的一类化合物的TSG101亲合力较由(4*R*)-aminoxy-Pro或(3*S*)-aminoxy-Pro合成的两类化合物亲合力低很多,甚至检测不到亲合力,可能是其脲取代基方向与TSG101蛋白上的结合腔袋不相配。而所用醛类R-CHO的R基为对位取代或对位

与间位双取代苯基时亲合力较高,大约为6~7个碳原子的长度,这表明Pro<sub>11</sub>的结合位点是一个较大的空腔,当取代基的体积适当时亲合力较好。

#### 4 结语

目前临床使用的抗HIV药物主要是蛋白酶抑制剂和逆转录酶抑制剂,由于HIV-1病毒具有高度变异性,易对此类药物产生耐药性。寻找新作用机制和不易产生耐药性的药物是当今抗HIV药物研究的首要任务。加深对HIV生命活动的研究,了解HIV生命周期的各个环节的作用机制,对于合理设计药物是必要的。TSG101作为HIV出芽过程中一个必要的宿主细胞因子,在HIV的释放的末期起着关键作用,是HIV病毒体内扩散传播的门槛。因此,根据它的作用设计相应的HIV抑制剂,将可能在抗HIV药物研究中有新的突破。

#### References

- [1] Li L, Cohen SN. TSG101: a novel tumor susceptibility gene isolated by controlled homozygous functional knockout of allelic loci in mammalian cells [J]. Cell, 1996,85:319-329.
- [2] Garrus JE, von Schwedler UK, Pornillos OW, et al. Tsg101 and the vacuolar protein sorting pathway are essential for HIV-1 budding [J]. Cell, 2001,107:55-65.
- [3] Li L, Li X, Francke U, et al. The TSG101 tumor susceptibility gene is located in chromosome 11 band p15 and is mutated in human breast cancer [J]. Cell, 1997, 88:143-154.
- [4] Liu FL, Fu SB, Li P. Advances in TSG101 Gene [J]. Int J Genet, 2007,30:14-18.
- [5] Watanabe M, Yanagi Y, Masuhiro Y, et al. A putative tumor suppressor, TSG101, acts as a transcriptional

- suppressor through its coiled-coil domain [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 245:900-905.
- [6] McDonald B, Martin-Serrano J. Regulation of TSG101 expression by the steadiness box; a role of TSG101-associated ligase [J]. *Mol Biol Cell*, 2008, 19:754-763.
- [7] Morita E, Sandrin V, Alam SL, et al. Identification of human MVB12 proteins as ESCRT-I subunits that function in HIV budding [J]. *Cell Host Microbe*, 2007, 2:41-53.
- [8] Feng Q, Feng ZH, Yu YN. The study progress of tumor sensitive gene TSG101 in molecular biology [J]. *Carcino Terato Muta*, 1999, 11:151-153.
- [9] Garrus JE, von Schwedler UK, Pornillos OW, et al. Tsg101 and the vacuolar protein sorting pathway are essential for HIV-1 budding [J]. *Cell*, 2001, 107:55-65.
- [10] Palencia A, Martinez JC, Mateo PL, et al. Structure of human TSG101 UEV domain [J]. *Acta Cryst*, 2006, D62:458-464.
- [11] Ott DE. Potential roles of cellular proteins in HIV-1 [J]. *Rev Med Virol*, 2002, 12:359-374.
- [12] Pornillos O, Alam SL, Rich RL, et al. Structure and functional interactions of the Tsg101 UEV domain [J]. *EMBO J*, 2002, 21:2397-2406.
- [13] Freed EC. The HIV-TSG101 interface: recent advances in a budding field [J]. *Trends Microbiol*, 2003, 11:56-59.
- [14] Adamson CS, Jones IM. The molecular basis of HIV capsid assembly-five years of progress [J]. *Rev Med Virol*, 2004, 14:107-121.
- [15] Pornillos O, Garrus JE, Sundquist WI. Mechanisms of enveloped RNA virus budding [J]. *Cell Biology*, 2002, 12:569-579.
- [16] Demirov DG, Freed EO. Retrovirus budding [J]. *Virus Res*, 2004, 106:87-102.
- [17] von Schwedler UK, Stuchell M, Müller B, et al. The protein network of HIV budding [J]. *Cell*, 2003, 114:701-713.
- [18] Walsch S, Müller B, Kräusslich HG. More than one door - Budding of enveloped viruses through cellular membranes [J]. *FEBS Lett*, 2007, 581:2089-2097.
- [19] Ott DE. Cellular proteins detected in HIV-1 [J]. *Rev Med Virol*, 2008, 18:159-175.
- [20] Strack B, Calistri A, Craig S, et al. AIP1/ALIX is a binding partner for HIV-1 p6 and EIAV p9 functioning in virus budding [J]. *Cell*, 2003, 114:689-699.
- [21] Muziol T, Molina EP, Ravelli RB, et al. Structural basis for budding by the ESCRT-III factor CHMP3 [J]. *Exp Cell Res*, 2008, 314:801-813.
- [22] Liu F, Stephen AG, Adamson CS, et al. Hydrazone- and hydrazide-containing *N*-substituted glycines as peptoid surrogates for expedited library synthesis: application to the preparation of Tsg101-directed HIV-1 budding antagonists [J]. *Org Lett*, 2006, 8:5165-5168.
- [23] Liu F, Stephen AG, Fisher RJ, et al. Protected aminoxyprolines for expedited library synthesis: Application to Tsg101-directed praline-oxime containing peptides [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18:1096-1101.