



· 综述 ·

以 HIV-1 Vif 与人 APOBEC3G 为靶点的 抗 HIV-1 药物的研究方法

乔新华, 张文俊, 李泽琳*, 曾毅*

(北京工业大学 生命学院, 北京 100124)

[摘要] 人载脂蛋白 B mRNA 编辑酶催化多肽样蛋白 3G (apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide 3 protein G, APOBEC3G) 是宿主的抗 HIV-1 (human immunodeficiency virus type 1) 因子, 而 HIV-1 辅助蛋白——病毒感染因子 Vif (viral infectivity factor) 可通过介导蛋白酶体途径降解 APOBEC3G, 因此针对 APOBEC3G 及 HIV-1 Vif 进行抑制剂设计已经成为抗 HIV-1 药物研究新的方向之一, 相应于研究 Vif-APOBEC3G 相互作用的方法也越来越多, 如免疫印迹、免疫杂交、脉冲追踪试验、生物发光共振能量转移检测、BIAcore 检测等。作者将目前用于以 Vif-APOBEC3G 为靶点的药物的筛选及作用机制的研究方法进行了综述, 为基于此的研究提供了策略。

[关键词] APOBEC3G; HIV-1 Vif; 抗 HIV-1 抑制剂

人载脂蛋白 B mRNA 编辑酶催化多肽样蛋白 3G (APOBEC3G) 属于具有胞嘧啶脱氨酶活性的固有免疫家族成员^[1]。在非允许细胞内, APOBEC3G 通过与 HIV-1 Gag 的核衣壳结合, 在 7SL RNA 或病毒基因组 RNA 的作用下被有效地包裹到出芽的 Δ Vif HIV-1 病毒粒子中^[2-4], 在随后的病毒逆转录过程中, APOBEC3G 可通过脱氨机制和非脱氨机制抑制 HIV-1 的活性^[5-7]。HIV-1 Vif 能使 HIV-1 毒粒的感染力增强 10~1 000 倍^[8], 并能拮抗 APOBEC3G 的功能。Vif 一方面可以屏蔽 APOBEC3G 的病毒结合区, 阻止 APOBEC3G 包装进入子代病毒中; 另一方面可以通过泛素——蛋白酶体途径降解 APOBEC3G, Vif N 端的 YRHHY 结构可以与 APOBEC3G 的 N 端结合, C 端保守的 SLQ (Y/F) LA 结构可以特异地与 Elongin B, Elongin C, Cullin-5 (Cul5), Rbx1 结合形成 Skp1-cullin-F-box (SCF), 该蛋白复合物可介导 APOBEC3G 的泛素化, 而泛素化的 APOBEC3G 很快被 26S 蛋白酶体所降解, 从而导致 APOBEC3G 无法及时被包装进入病毒颗粒发挥抗病毒作用^[9-13]。Vif-APOBEC3G 被确定为抗 HIV-1 药物新的治疗靶点以来, 科研人员对二者相互作用及作用机制的研究过程中, 发展了许多与之相应的技术和方法, 为更快地寻找到以 Vif-APOBEC3G 为靶点的抗 HIV-1 抑制剂提供了技术平台, 本文将这些方法进行了综述和分析。

[稿件编号] 20101104001

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划 (973) 项目 (2009CB930203)

[通信作者] * 李泽琳, Tel/ Fax: (010) 67392780, E-mail: zl_li@hotmail.com; * 曾毅, Tel: (010) 67391441

[作者简介] 乔新华, 在读研究生, Tel: (010) 67391668

1 BIAcore 检测 (biomolecular interaction analysis)

BIAcore 技术的核心是表面等离子共振技术 (surface plasmon resonance, SPR), 通过监测传感芯片表面与所结合生物相对分子质量成正比的液体折射率的变化来实时跟踪生物分子间的相互作用^[14]。首先制备、纯化靶蛋白 (Vif, APOBEC3G 蛋白), 然后将靶蛋白偶联在 CM5 芯片上, 当待测的样品 (中药、天然药物、化合物) 通过微射流盘卡流过芯片表面时, 检测器可以实时检测出靶蛋白和待测样品之间有无相互作用及结合强度, 其结合情况可用 RU 表示 (1 RU 的响应值等价于芯片表面结合物质的浓度改变了 $1 \text{ pg} \cdot \text{mm}^{-2}$), 此检测可用于高通量的初步筛选作用靶点为 Vif, APOBEC3G 的抗 HIV-1 抑制剂, 同时, BIAcore 检测也直接反映了有效药物的作用靶点, Cen 等^[15]将 IMB-26/35 分别与偶联在芯片表面上的靶蛋白 Vif 和 APOBEC3G 进行结合, 结果显示 IMB-26/35 与 APOBEC3G 的结合值为 35 RU, 但与 Vif 并无结合, 这表明其作用靶点在 APOBEC3G 上, 推测其作用机制是通过与 APOBEC3G N 末端相互作用而阻止了 HIV-1 Vif 与 APOBEC3G 的结合, 同时又不影响 APOBEC3G C 末端的脱氨酶活性。BIAcore 检测过程方便、快捷且周期短, 可高通量地针对靶点对待测样品进行筛选及作用机制的分析, 但仪器较为昂贵, 尚未能在科研领域广泛应用。

2 荧光强度分析法

将构建的带荧光标签 (如 YFP, GFP, RFP) 的 APOBEC3G 表达质粒与 Vif 表达质粒共转染 293T 细胞, 加入待测化合物, 24~48 h 后收获细胞总蛋白, 靶蛋白 APOBEC3G 的荧光强度可在 Safire 读板机下读取。若 1 个有效样品能降低 Vif 对 APOBEC3G 的降解, 那么 APOBEC3G 荧光强度会加



强^[15-16]。Robin Nathans 和 Cen 等^[15,17]分别用此方法对大量的化合物进行了高通量的筛选,初步筛选到了作用靶点为 Vif-APOBEC3G 的小分子抑制剂 RN-18 和 IMB-26/35。此方法操作简便,适于微量,且可对待测样品进行高通量的筛选,但固有的荧光或非特异性蛋白的表达会导致假阳性的出现,需要用其他方法对结论进一步验证。

3 抗 HIV-1 的活性的检测

病毒水平的检测能直接反映初步筛选的样品的抗 HIV-1 活性,排除分子水平筛选上的假阳性,主要有 MAGI 检测、P24 抗原检测及 HIV-1 逆转录酶(RT)活性检测。

MAGI 检测是一种单轮复制感染检测,其原理是 MAGI-CCR5 细胞中整合了一段包含 HIV-1 长末端重复序列(LTR)连接的 β -半乳糖苷酶基因,当病毒感染 MAGI 细胞后,翻译出早期蛋白 Rev 及 Tat, Tat 蛋白能反式激活由 HIV-1 LTR 指导的 β -gal 基因从而表达 β -半乳糖苷酶。MAGI 细胞经固定、X-gal 底物的加入、显色等处理后出现蓝斑,可根据蓝斑的数量判断病毒感染细胞的情况。此检测可用于 HIV-1 病毒滴度或者药物对病毒抑制率的测定。将野生型 HIV-1 质粒与 APOBEC3G 共感染到 293T 细胞或将 HIV-1 感染 H9 细胞,加入待测样品,48 h 后收获上清,对子代病毒粒子的感染力进行 MAGI 检测,确定待测样品的作用效果。Yu 等^[18-19]用此方法证明:在 APOBEC3G 存在下,7 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的锌离子螯合剂 TPEN 可使病毒感染力降低 87%,2.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 蛋白酶体抑制剂 MG132 使病毒感染力下降 75%。MAGI 检测实验周期短,运用全自动扫描软件辅助进行蓝斑计数,方便快捷,数据精确可信。或非允许性细胞如 H9, MT2 在待测样品存在下,一种情况可用野生型的 HIV-1 感染允许性细胞(MT4, SupT1)或非允许性细胞(H9, MT2),另一种情况分别用野生型的和 Δ Vif HIV-1 感染非允许性细胞(H9, MT2),以分析待检样品是否由于作用于 Vif-APOBEC3G 的靶点而表现对 HIV-1 的抑制作用。例如前一种情况,待测样品加入感染 HIV-1 的细胞后连续培养 2~3 周,每隔 2 d 用 ELISA 法检测培养液上清中病毒的 P24 抗原或逆转录酶活性。如果样品仅对 H9 细胞有抗 HIV-1 活性可确定为靶点为 Vif-APOBEC3G 的抑制剂;而对 MT4 和 H9 细胞中 HIV-1 的复制都有抑制作用,则样品有抗 HIV-1 活性,但靶点不一定在 Vif-APOBEC3G 上。Robin Nathans 等^[13]用此方法从初筛得到的 25 种化合物中确定了作用靶点为 Vif-APOBEC3G 的小分子化合物 RN-18, RN-19, 它们在 MT4 细胞中无抗 HIV-1 活性,但能使 H9 细胞中 HIV-1 逆转录酶活性不断下降,且呈现出量效反映关系。James 等合成一段多肽,研究表明此多肽可以使 HIV-1 在 MT2 细胞中的逆转录酶活性降低约 80%。此多肽可以干扰 Vif 二聚化,提示 Vif 的多聚化对保持 Vif 的功能至关重要^[20-21]。

4 免疫印迹(Western-blotting)

将 Vif 与 APOBEC3G 表达质粒按照一定的比例共感染

293T 细胞,加入待测样品,48 h 后进行 Western-blot,可根据与对照组中 APOBEC3G 的表达量的变化来计算化合物对 APOBEC3G 的保护率。同时受到保护的 APOBEC3G 可以更多地被包裹进病毒粒子中,因此也可以通过检测病毒粒子中 APOBEC3G 的含量来进一步印证待测样品对 APOBEC3G 的保护作用。Yu^[19]将 APOBEC3G 与野生型 HIV-1 共感染 293T 细胞后加入锌离子螯合剂 TPEN,48 h 后用 Western-blot 分别检测细胞总蛋白和病毒总蛋白中 APOBEC3G 的表达的含量,发现 TPEN 对细胞内 APOBEC3G 的保护率可达 90%,且病毒粒子中加药组 APOBEC3G 的含量也增加了约 40%。Robin Nathans^[17]用此方法证明 RN-18 增加了 APOBEC3G 在细胞中的表达,并促使 APOBEC3G 包裹进病毒粒子,从而达到拮抗 Vif 的作用。

APOBEC3G 是通过 Vif 介导的蛋白酶体途径而被降解,但有一些蛋白酶体抑制剂如 MG132, ALLN 等的靶点并不为 Vif-APOBEC3G,但因阻断了蛋白酶体途径而保护了 APOBEC3G,同时也降低了 HIV-1 的感染力,这造成以 Vif-APOBEC3G 为靶点的待测样品筛选中假阳性的出现。为了排除这种可能性,Yu^[12]建立了 Cul5-E3 连接酶系统检测方法,其原理是:腺病毒蛋白 E4orf6 是 Cul5 的基质受体,其主要功能为靶向细胞内 p53 经泛素依赖的蛋白酶体途径的降解,可据此来检测待测样品是否干扰了蛋白酶体途径。将 p53 和 E4orf6 或 Vif 和 APOBEC3G 的表达质粒分别共感染 293T 细胞后加入等剂量待测样品,24 h 后对细胞中 p53 蛋白及 APOBEC3G 含量进行 Western-blot 检测。如果无论待测样品存在与否,p53 都可被降解,则可说明此样品对蛋白酶体途径无影响,进而可判断样品对 APOBEC3G 的保护作用是基于 Vif 靶点。尽管锌离子对蛋白酶体途径中负责招募泛素缀合酶(UBC, E2)的 Rbx1 的功能很重要,但 Yu^[19]用此方法证明 4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的锌离子螯合剂 TPEN 并不影响 Rbx1 的功能,证明其作用靶点为 Vif-APOBEC3G。同样 Cen^[15]用此方法证明 IMB-26/IMB-35 对蛋白酶体途径并无影响。

免疫印迹结合了凝胶电泳的高分辨率和固相免疫测定的特异性、敏感性等优点,被广泛应用到 Vif-APOBEC3G 的研究中,而共感染的效率是保证此类实验成功的关键。

5 脉冲追踪试验(pulse-chase experiments)

脉冲追踪试验是将 Vif 和 APOBEC3G 的表达质粒共感染 293T 细胞,48 h 后,使细胞在不含甲硫氨酸和半胱氨酸的细胞维持液中生长 30 min,然后换含³⁵S 的甲硫氨酸和半胱氨酸的培养基对细胞进行标记,15 min 后用含 10% 胎牛血清的 DMEM(含 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的未标记的甲硫氨酸和半胱氨酸及 0.5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的环己酰亚胺)终止标记。分别在不同时刻收获细胞总蛋白,对 APOBEC3G/Vif 蛋白进行免疫共沉淀后用 SDS-PAGE 进行分离,然后用感光成像仪(phosphorimager)对³⁵S 进行定量跟踪。将 0 时刻时 APOBEC3G 的含量定义为 100%,在 0~2 h 内³⁵S 含量的变化反映了 APOBEC3G/Vif 的降解速度。



若要检测待测样品的作用,可以在此系统中加入待测样品,检测其对 APOBEC3G/Vif 降解的影响^[22]。Yu 用此方法研究了 Vif 和蛋白酶抑制 MG132 在 APOBEC3G 降解中的作用,发现在 120 min 时 APOBEC3G 自然降解为 84.9%,而 Vif 的存在可以使 APOBEC3G 的降解速度加快约 3 倍^[23];MG132 可以保护 APOBEC3G 几乎不被 Vif 降解^[18]。Robin Nathans^[13] 等用此方法证明:在 A3G 的存在下,RN-18 具有加速 Vif 降解的功能,使 Vif 的半衰期由 46 min 降低到 33 min。尽管脉冲追踪利用放射性同位素作为示踪剂灵敏度很高,但放射性同位素对人体有极大的危害,其应用也受到一定限制。

6 生物发光共振能量转移检测 (bioluminescence resonance energy transfer, BRET)

BRET 是在荧光共振能量转移检测法 (fluorescence resonance energy transfer, FRET) 的基础上发展起来的一种检测蛋白与蛋白相互作用的方法。与 FRET 不同的是 BRET 中受体 (绿色荧光蛋白) 是由荧光素酶产生的光激发的,这样一个酶反应作为激发受体分子的能量来源,巧妙地解决了 FRET 中产生的对受体的交叉激发问题。此方法既可用于检测 Vif-APOBEC3G 之间相互作用,也可用于以 Vif-APOBEC3G 为靶点的药物机制的研究。

BRET 以检测供体蛋白-海肾荧光素酶 (Rluc) 和受体蛋白-绿色荧光蛋白受体 (GFP2) 之间的能量转移为基础。将构建的 hGFP2-Vif (结合在 N 末端,使之不能降解 APOBEC3G) 和 hRluc-hAPOBEC3G 表达质粒共转染 293T 细胞,则 GFP2 和 Rluc 分别与目标蛋白 Vif, APOBEC3G 形成融合蛋白,在可渗透性底物 DeepBlueC (DBC) 存在时, Rluc 可将其氧化成 coelenteramide,同时发出蓝色荧光,最大发射波长为 395 nm。当受体蛋白 GFP2-Vif 接近时,蓝色荧光的能量被共转移到 GFP2 上,发出绿色荧光,最大发射波长为 510 nm。Rluc/DBC 和 GFP2 之间的能量转移效率用供体发射光强度除以受体发射光强度的比值为 BRET 率,即 Vif 与 APOBEC3G 的相互作用的强弱通过 BRET 率来衡量。在此系统中加入待测化合物,根据 BRET 率就可以判断此化合物对 Vif-APOBEC3G 相互作用是否有影响。Cen 等^[15] 用此方法检测到小分子 IMB-26/35 浓度与 BRET 率呈负相关,说明小分子 IMB-26/35 可以抑制 Vif 与 APOBEC3G 的结合。

7 免疫共沉淀

Vif 与 APOBEC3G 之间,Vif 与宿主细胞蛋白之间存在着天然的相互作用,免疫共沉淀非常适于待测样品对这些蛋白之间相互作用机制的研究。Cen^[15] 等将构建的 APOBEC3G-HA 及 Vif-Myc 质粒共转染 293T 细胞,细胞裂解液用抗 Myc 标签的抗体进行共沉淀,然后用抗 HA-的抗体进行免疫杂交,检测到 APOBEC3G 的存在,反之亦然,这充分证明了 Vif-APOBEC3G 是一对相互作用的蛋白。将免疫复合物分别用抗 Cul5, Elongin B, Elongin C 蛋白的抗体进行免疫杂交,检测到这些参与组成泛素蛋白复合体的宿主细胞蛋白的存在,从

而从分子水平阐明了 Vif 降解 APOBEC3G 的相关机制。

Yu^[19] 研究了锌离子螯合剂 TPEN 的作用机制,结果表明 TPEN 并不影响 Vif 与 APOBEC3G 的结合,但却阻止了 Vif 对 Cul5 的招募。因为 Vif 中高度保守锌离子结合基序 Hx₅Cx₁₇₋₁₈Cx_{3,5}H 介导与 Cul5 的结合,而锌离子螯合剂 TPEN 抑制了能稳定此基序中疏水区的锌离子的功能,从而使 Vif 降低对 Cul5 的招募,阻碍 SCF 复合体的形成,即保护了 APOBEC3G 不被降解。Zhu KT^[24] 等针对 Elongin C 设计了一小段可特异性的与 ElonginC 结合的短肽,免疫共沉淀结果表明这段肽竞争性的阻断了 Elongin C 与 Vif 的结合。Cen 等^[15] 用此方法表明 IMB-26/35 阻止了 HIV-1Vif 与 APOBEC3G 的结合。

免疫共沉淀研究的靶蛋白是以翻译后被修饰的天然状态存在于细胞内,从而避免了很多外界因素导致的实验误差,但其局限性是需要多克隆抗体或单克隆抗体,因而在大规模筛选未知蛋白上会遇到困难。

8 小结

除此之外,还有 GST 融合蛋白测定法、计算机技术模拟等方法。这些方法各有千秋,在不同的研究阶段恰当的运用不同的方法,可以更快速、更直接地达到研究目的。如果从一些待测样品中筛选以 Vif-APOBEC3G 为靶点的有效抑制剂并对抑制剂作用机制进行研究,基本策略为:首先用 BIAcore 检测及荧光强度分析法快速的筛选到作用于 Vif-APOBEC3G 的化合物,然后在病毒水平上明确待测样品对 HIV-1 复制的抑制作用,排除分子水平上的假阳性,最后对样品作用机制进行探讨:①BIAcore 检测可确定待测样品作用靶点为 Vif 或 APOBEC3G。②免疫印迹法和脉冲追踪实验可以明确待测样品对 APOBEC3G 是否有保护作用或者对 Vif 是否有降解作用。③BRET、免疫共沉淀检测待测样品是否影响 Vif 与 APOBEC3G 的相互作用;是否影响 Vif 与细胞因子 Cul5, Elongin B, Elongin C 的相互作用而干扰了蛋白酶体途径 (用 Cul5-E3 连接酶系统检测方法排除非特异性干扰蛋白酶体途径的样品)。总之,综合运用上述的方法对以 Vif-APOBEC3G 为靶点的抗 HIV-1 药物进行筛选和作用机制的研究,结论间相互验证,更具有说服力。

【参考文献】

- [1] Bizhan R, Susan E, Richard H, et al. Antiviral roles of APOBEC proteins against HIV-1 and suppression by Vif. *archives of virology* [J]. Arch Virol, 2009, 154:1579.
- [2] Wang T, Tian C, Zhang W, et al. 7SLRNA mediates virion packaging of the antiviral cytidine deaminase APOBEC3G [J]. *Virology*, 2007, 81 (23) : 13112.
- [3] Wang T, Zhang W, Tian C, et al. Distinct viral determinants for the packaging of human cytidine deaminases APOBEC3G and APOBEC3C [J]. *Virology*, 2008, 377 (1) : 71.
- [4] Timothy M, Alce Waldemar Popik. APOBEC3G is incorporated into virus-like particles by a direct interaction with HIV-1 gag nucleocapsid protein [J]. *Biol Chem*, 2004, 279 (33) : 34083.



- [5] Manganet B, Turelli P, Caron G, et al. Broad antiretroviral defence by human APOBEC3G through lethal editing of nascent reverse transcripts[J]. *Nature*, 2003, 424(6944):99.
- [6] Anderson J L, Hope T J. APOBEC3G restricts early HIV-1 replication in the cytoplasm of target cells[J]. *Virology*, 2008, 375(1):1.
- [7] Luo K, Wang T, Liu B, et al. Cytidine deaminases APOBEC3G and APOBEC3F interact with human immunodeficiency virus type 1 integrase and inhibit proviral DNA formation [J]. *Virology*, 2007, 81(13):7238.
- [8] S U Von, J Song, C Aiken, et al. Vif is crucial for human immunodeficiency virus type 1 proviral DNA synthesis in infected cells [J]. *Virology*, 1993, 67(8):4945.
- [9] Goila-Gaur R, Trebel K. HIV-1 Vif, APOBEC, and intrinsic immunity[J]. *Retrovirology*, 2008, 5:51.
- [10] Mehle A, Strack B, Ancuta P, et al. Vif overcomes the innate antiviral activity of APOBEC3G by promoting its degradation in the ubiquitin- proteasome pathway [J]. *Biol Chem*, 2004, 279(9):7792.
- [11] Marcisin S R, Engen J R. Molecular insight into the conformational dynamics of the elongin BC complex and its interaction with HIV-1 Vif[J]. *J Mol Bio*, 2010, 402(5):892.
- [12] Bergeron J R, Huthoff H, Veselkov D A, et al. The SOCS-box of HIV-1 Vif interacts with Elongin BC by induced-folding to recruit its Cul5-containing ubiquitin ligase complex[J]. *PLoS Pathog*, 2010, 6(6):e1000925.
- [13] Reingewertz T H, Shalev D E, Friedler A. Structural disorder in the HIV-1 Vif protein and interaction-dependent gain of structure [J]. *Protein Pept Lett*, 2010, 17(8):988.
- [14] Stuart A Caina, Bertrand Raynala, Nigel Hodsona, et al. Biomolecular analysis of elastic fibre molecules[J]. *Methods Extracell Matr Res*, 2008, 45(1):42.
- [15] Cen S, Peng Z, Li X Y, et al. Small molecular inhibitors for HIV-1 replication through specifically stabilizing APOBEC3G [J]. *Biol Chem*, 2010, 285(22):16546.
- [16] Nowotny B, Schneider T, Pradel G, et al. Inducible APOBEC3G-Vif double stable cell line as a high-throughput screening platform to identify antiviral compounds[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(1):78.
- [17] Nathans R, Cao H, Sharova N, et al. Small-molecule inhibition of HIV-1 Vif[J]. *Nat Biotechnol*, 2008, 26(10):1187.
- [18] Liu B, Yu X, Luo K, et al. Influence of primate lentiviral Vif and proteasome inhibitors on human immunodeficiency virus type 1 virion packaging of APOBEC3G[J]. *J Virol*, 2004, 78:2072.
- [19] Xiao Z, Ehrlich E, Luo K, et al, Zinc chelation inhibits HIV Vif activity and liberates antiviral function of the cytidine deaminase APOBEC3G[J]. *FASEB J*, 2007, 21(1):217.
- [20] Adessi C, Soto C. Converting a peptide into a drug: strategies to improve stability and bioavailability[J]. *Curr Med Chem*, 2002, 9(9):963.
- [21] Miller J H, Presnyak V, Smith H C. The dimerization domain of HIV-1 viral infectivity factor Vif is required to block virion incorporation of APOBEC3G[J]. *Retrovirology*, 2007, 4:81.
- [22] Fujita M, Akari H, Sakurai A, et al. Expression of HIV-1 accessory protein Vif is controlled uniquely to be low and optimal by proteasome degradation[J]. *Microbes Infect*, 2004, 6(9):791.
- [23] Yu X, Yu Y, Liu B, et al. Induction of APOBEC3G ubiquitination and degradation by an HIV-1 Vif-Cul5-SCF complex [J]. *Science*, 2003, 302(5647):1056.
- [24] ZHU Ketong, ZHANG Xizhen, LOU Chaoping, et al. Peptide inhibitors of HIV-1 virus infection based on cullin-5[J]. *Chem Res Chin Univ*, 2008, 24(3):338.

Research methods of antiHIV-1 inhibitors targeting at Vif -APOBEC3G axis

QIAO Xinhua, ZHANG Wenjun, LI Zelin*, ZENG Yi*

(College of Life Science, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China)

[**Abstract**] The mammalian APOBEC3G protein(apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide 3 protein G, APOBEC3G) is an important component of the cellular innate immune response to retroviral infection. APOBEC3G can extinguish HIV-1(human immunodeficiency virus type 1) infectivity by its incorporation into virus particles and subsequent cytosine deaminase activity to block replication of HIV-1. HIV-1 Vif (viral infectivity factor) suppresses various APOBEC3 proteins through a common mechanism which induces the degradation of target proteins. Therefore, the interrelation of Vif-APOBEC3G has been extensively studied, which represents attractive targets for the development of novel inhibitors. We summarize the papers in which the detection technique and methods have been developed to assay the anti-HIV activity and its mechanism, such as western-blotting, co-immunoprecipitation, pulse-chase experiments, bioluminescence resonance energy transfer, biomolecular interaction analysis. This review is towards developing therapeutics aimed at the Vif -APOBEC3G axis.

[**Key words**] APOBEC3G; HIV-1Vif; antiviral inhibitors