

综述

Importin β 1介导的病毒蛋白入核转运在病毒复制中作用的研究进展

胡 焱¹ 熊建民¹ 赵佳福¹ 嵇辛勤^{1,2*} 段志强^{1,2*}¹贵州大学动物科学学院, 贵阳 550025;²贵州大学高原山地动物遗传育种与繁殖省部共建教育部重点实验室, 贵阳 550025)

摘要 核转运受体蛋白 importin β 1 是输入蛋白 importin β 家族重要成员之一, 它是一种相对保守的、广泛分布于真核生物细胞内的核转运受体蛋白。许多研究表明, importin β 1 能直接识别和结合含有不同类型核定位信号的病毒蛋白并转运其入核, 此过程对病毒的整个复制和致病进程起着十分重要的作用。该文主要从 importin β 1 的结构特征、介导的病毒蛋白入核转运机制以及在病毒复制中的作用、药物阻断 importin β 1 参与的病毒复制等研究方面进行综述, 以期为后续研究病毒蛋白细胞核定位的分子机制和功能以及抗病毒治疗提供参考。

关键词 importin β 1; 核转运受体蛋白; 入核转运; 病毒复制

Advances in Importin β 1-Mediated Nuclear Transport of Viral Proteins in the Replication of Viruses

Hu Yan¹, Xiong Jianmin¹, Zhao Jiafu¹, Ji Xinqin^{1,2*}, Duan Zhiqiang^{1,2*}¹College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China; ²Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction in the Plateau Mountainous Region, Ministry of Education, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract Importin β 1, an important member of the importin β family, is a kind of relatively conserved and widely distributed karyopherin in eukaryotic cells. Numerous studies have shown that importin β 1 can directly recognize and bind the viral proteins carrying different types of nuclear localization signals and mediate the nuclear import of these proteins, which is essential for the replication and pathogenicity of many viruses. In this review, we have summarized the structure features of importin β 1, the nuclear transport mechanism of viral proteins mediated by importin β 1, the function of importin β 1 in the replication of viruses and the drug targets related to importin β 1 against virus infection, which will provide the literature basis to further study the molecular mechanism and functions of nuclear localization of viral proteins as well as antiviral treatment.

Keywords importin β 1; karyopherin; nuclear transport; virus replication

收稿日期: 2017-03-24 接受日期: 2017-05-09

国家自然科学基金(批准号: 31502074)、贵州省科学技术基金(批准号: 黔科合J字[2015]2054号)、贵州省省校合作计划(批准号: 黔科合LH字[2014]7669号)和贵州大学引进人才科研项目(批准号: 贵大人基合字[2014]10号)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0851-88298005, E-mail: jxq972@126.com; zqduan@gzu.edu.cn

Received: March 24, 2017 Accepted: May 9, 2017

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31502074), the Science and Technology Fund of Guizhou Province (Grant No.QKH-2015-2054), the Guizhou Province-School Cooperation Project (Grant No.QKH-LH-2014-7669) and the Scientific Research Project of Guizhou University Talents Fund (Grant No.GDRJHZ-2014-10)

*Corresponding authors. Tel: +86-851-88298005, E-mail: jxq972@126.com; zqduan@gzu.edu.cn

网络出版时间: 2017-07-18 16:51:07 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170718.1651.008.html>

真核细胞中生物分子进出细胞核需要穿过核孔复合体(nuclear pore complex, NPC), 它是一种特殊的跨膜运输蛋白质复合体^[1]。由于NPC的存在, 不同分子量的生物分子需要以不同的方式穿过核膜。研究表明, 分子量小于50 kDa的蛋白质能以自由扩散方式通过NPC, 但分子量大于50 kDa的蛋白质则以主动运输方式穿过NPC, 而核转运受体(karyopherin)在这一运输过程中发挥了重要作用^[2-3]。核转运受体是一类与核孔选择性运输有关的蛋白质家族, 包括importin α 和importin β 两个输入蛋白质家族, 前者主要作用是识别和结合携带核定位信号(nuclear localization signal, NLS)的靶蛋白(包括细胞蛋白和病毒蛋白), 而后者主要是引导importin α -靶蛋白二元复合物穿过NPC^[4-5]。目前发现, importin α 和importin β 家族成员在真核生物中广泛分布, 现已知的importin α 家族有7个成员, 它们的氨基酸序列保守性较高, 均含有3个保守的结构域, 分别为IBB结构域(importin β binding)、ARM结构域(armadillo β -catenin-domain)和C-端结构域^[6]; 而importin β 家族有20个成员, 它们的氨基酸序列保守性较低, 含有2个保守的结构域, 即IBN_N(importin beta N-terminal domain)结构域和HEAT(huntingtin, elongation factor 3, protein phosphatase 2A and TOR1)结构域^[7]。

早期鉴定的蛋白质分子入核转运途径属于经典的核输入过程, 需要importin α 和importin β 的共同参与。但是近年来, 许多研究表明, importin β 家族的多个成员可直接介导靶蛋白进行入核转运, 此过程不依赖于importin α ^[8]。例如, importin β 1可直接把核心组蛋白和核糖体蛋白质等转运入核, 也能识别和结合携带NLS的靶蛋白介导其入核转运, 这最早在人免疫缺陷病毒1型Tat(transactivating transcription protein)蛋白质和Rev(regulator of virion protein expression)蛋白质的细胞核定位研究中得到证实^[9]。随后, 国内外研究人员相继发现, importin β 1可直接介导携带不同类型NLS的靶蛋白进入细胞核, 并且证实, importin β 1介导的靶蛋白转运速度要高于importin α /importin β 1介导的靶蛋白转运^[7,10-11]。目前, 大多数研究主要集中在importin β 1蛋白促进癌细胞增殖的分子机制以及作为药物靶标治疗癌症方面, 而对importin β 1介导的病毒蛋白入核转运及其在病毒复制中的作用研究报道甚少。本文就核转运受

体蛋白importin β 1的结构特征、介导病毒蛋白入核转运机制以及在病毒复制中的作用、药物阻断importin β 1参与的病毒复制等方面作一综述, 以期后续研究病毒蛋白细胞核定位的分子机制和功能以及抗病毒治疗提供参考。

1 Importin β 1的结构特征

迄今为止, 根据GenBank公布的importin β 家族成员基因, 在人和不同动物细胞中发现的importin β 家族成员在数量存在差异: 人类22个、小鼠20个、非洲爪蟾18个、原鸡17个、果蝇16个、酿酒酵母14个。这说明, 越高等的物种其importin β 家族成员基因的数量越多, 越能适应高等物种复杂的生理过程^[12]。核转运受体蛋白importin β 1属于importin β 蛋白质家族重要成员, 虽然它在真核生物的不同组织中具有表达差异性, 但在氨基酸组成上均含有保守的IBN_N结构域和HEAT结构域^[13]。对人和不同动物的importin β 1氨基酸序列分析(图1)发现: IBN_N结构域位于importin β 1 N-端, 由80个左右的氨基酸残基组成; 其中部为不超过20个HEAT单元构成的HEAT结构域, 每个HEAT单元包含37~46个氨基酸残基。从人和不同动物的importin β 1结构来看, 人和大鼠, 大猩猩、家兔、鸡和非洲爪蟾, 果蝇和斑马鱼具有相似的结构特征(图1)。利用生物信息学软件对人importin β 家族各成员的氨基酸序列比对分析发现, 它们之间的氨基酸序列保守性较低; 而人、大鼠、大猩猩、斑马鱼、家兔、鸡、非洲爪蟾和果蝇的importin β 1氨基酸同源性可达90%以上, 在进化上具有较高的保守性^[14]。

目前, 国内外对人importin β 1的结构和功能研究较为深入。在第21~101位氨基酸区域为IBN_N结构域, 可以与Ras相关核蛋白(ras related nuclear protein, Ran)结合; 而第2~873位氨基酸区域包含19个HEAT结构域, 该结构域可形成2种 α -螺旋结构(A螺旋和B螺旋, 图2), 其作用是通过伸展或收缩改变其构象, 为与其他细胞蛋白或病毒蛋白的相互作用提供丰富的结合位点^[11,15]。虽然importin β 1基因被认为是“管家基因”, 但它并不在人类的所有组织中均匀表达。研究发现, importin β 1基因在积极增殖的组织, 如肿瘤、睾丸、干细胞和淋巴细胞等显示出相对的高表达; 利用MAPPER计算工具预测的特化蛋白1(specificity protein 1, SP1)、核因子E2相关因子2(nuclear factor erythroid-2-related factor

2, NRF-2)、环-螺旋蛋白1(helix-loop-helix protein 1, HLH-1)、Ras应答元件结合蛋白1(ras responsive element binding protein 1, RREB-1)、CAAT框(CAAT box)等转录因子结合位点可能是调控人 *importin β* 基因表达水平的重要DNA元件^[12]。这为研究人和其他动物 *importin β* 基因表达调控机制提供了参考依据。

2 Importin β 蛋白介导的靶蛋白入核转运机制

病毒蛋白或细胞蛋白(统称为靶蛋白)进入细

胞核均需要核转运受体蛋白importin α 或importin β 识别和结合靶蛋白携带的NLS^[16-17]。NLS通常可分为三类^[18]: 第一类(type 1)是由单簇碱性氨基酸(R或K)组成, 包含2~10个连续的碱性氨基酸, 如SV40的大T抗原NLS(¹²⁶PKKKRKV¹³²); 第二类(type 2)由两簇碱性氨基酸组成, 包含一段5~20个氨基酸残基组成的间隔序列, 如非洲爪蟾核质蛋白NLS(¹⁵⁵KRPAATKKAGQAKKKK¹⁷⁰); 第三类(type 3)碱性氨基酸不单独成簇, 在氨基酸组成上没有明显的特征, 如PTHrP蛋白质NLS(⁶⁶RYLTQETNKVETYKEQPLKTPGKKKKGK⁹⁴)或hnRNP A1蛋白质NL

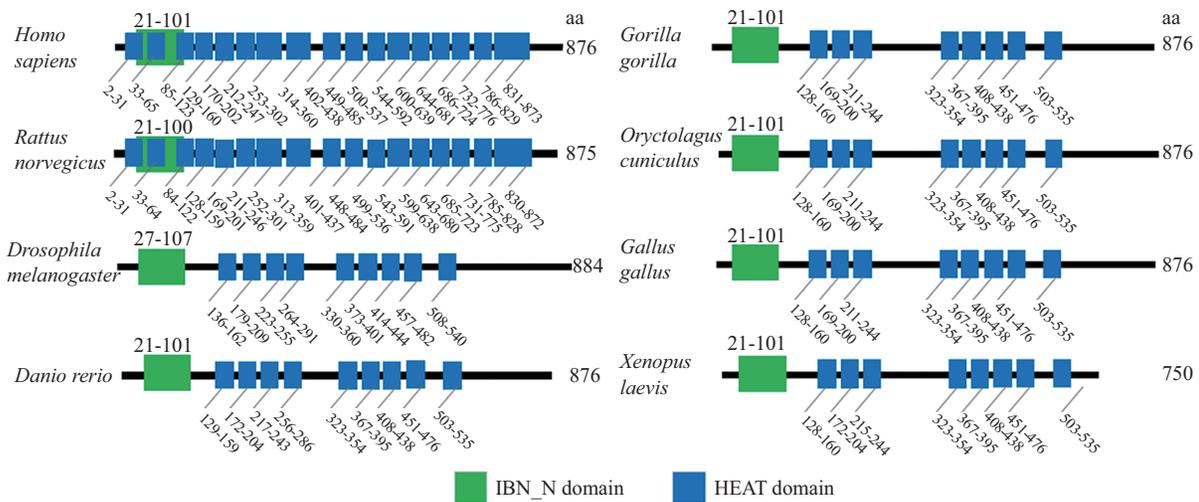
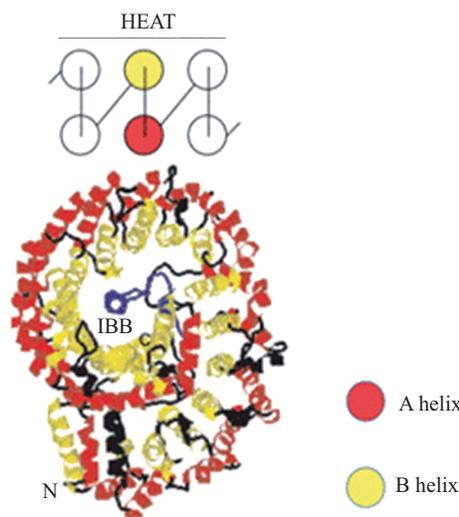


图1 不同物种importin β 蛋白结构示意图

Fig.1 The structure scheme of importin β protein of different species



红色和黄色表示人importin β 的HEAT结构域的A螺旋和B螺旋。蓝色表示importin α 结合区域。

The A and B helices of the HEAT domain of importin β are indicated by red and yellow, respectively. The importin α binding regions are shown in blue.

图2 人importin β 蛋白质三维结构(根据参考文献[6]修改)

Fig.2 The three-dimensional structure of human importin β protein (modified from reference [6])

S(²⁶³FGNYNNQSSNFGPMKGGNFGGRSSGPY²⁸⁹) (图3)。第一类和第二类NLS称为经典NLS, 通常由 importin α 识别^[19]; 而第三类NLS没有明显特征, 称为非经典NLS, 通常由 importin β 同系物(包括 importin β 1、 importin β 2和 importin β 3等)来识别^[20]。近年来, 许多研究发现, importin β 1 也可直接识别和结合携带经典或非经典NLS的靶蛋白并介导其进入细胞核^[11]。因此, importin β 1 介导的靶蛋白入核转运机制受到广泛关注。

研究表明, importin β 1 结合靶蛋白在穿过NPC的过程中还需要Ran参与^[21-22]。Ran是一种小G蛋白, 在细胞中通过与染色体浓缩调节因子1(regulator of chromosome condensation 1, RCC1)、 RanGTPase激活蛋白(Ran GTPase activating protein, RanGAP)等共同调控 importin β 1 介导的靶蛋白核质穿梭^[23]。随着研究的深入, importin β 1 直接介导的靶蛋白入核转运机制逐渐清晰, 其具体过程如图4所示^[24]。在细胞质中最先由 importin β 1 识别靶蛋白NLS并结合形

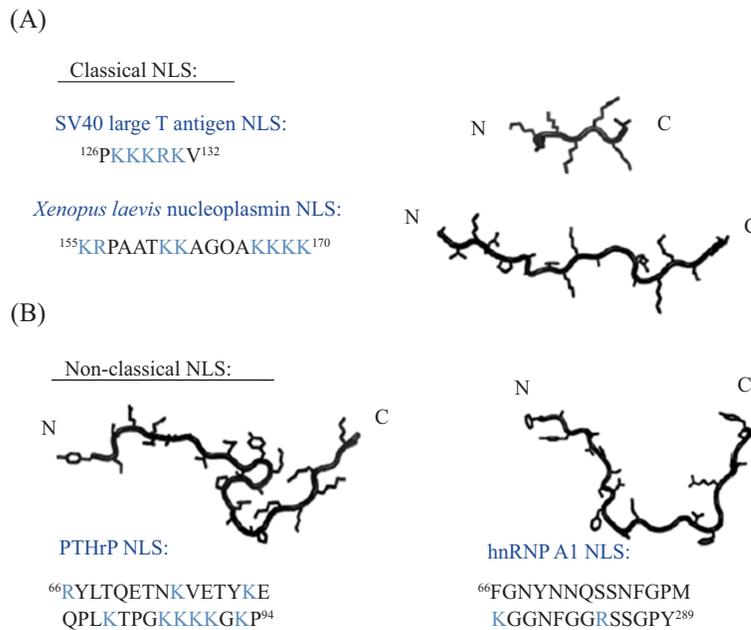


图3 经典(A)和非经典(B)NLS序列及其三维结构图(根据参考文献[11]修改)

Fig.3 The amino acid sequences and their three-dimensional structures of classical (A) and non-classical (B) NLS (modified from reference [11])

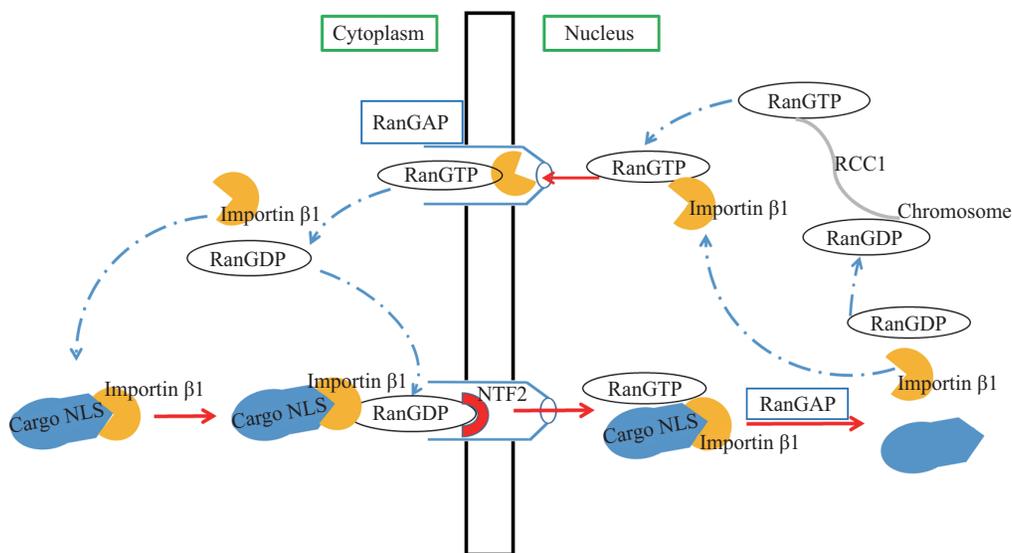


图4 Importin β 1 介导的靶蛋白入核转运示意图(根据参考文献[24]修改)

Fig.4 Nuclear import of cargo proteins mediated by importin β 1 (modified from reference [24])

成importin β 1-靶蛋白二元复合物,接着由importin β 1的 β 亚基与RanGDP结合形成靶蛋白-importin β 1-RanGDP三元复合物,并到达核膜附近。随后,复合物中的RanGDP与NPC上的核孔蛋白核运输因子2(nuclear transport factor 2, NTF2)结合,导致NPC构象改变,使原先位于细胞核外侧的核孔蛋白变位到细胞核内侧,这时与核孔蛋白结合的三元复合物进入细胞核内。由于细胞核内较高浓度的RanGTP取代RanGDP形成新的靶蛋白-importin β 1-RanGTP三元复合物,而与importin β 1的 β 亚基结合的RanGTP被RanGAP水解成RanGDP,释放的能量使新的三元复合物解离成靶蛋白、importin β 1-RanGDP。靶蛋白留在细胞核内,importin β 1-RanGDP中的RanGDP在染色体浓缩调节因子RCC1作用下,又被RanGTP替代形成importin β 1-RanGTP复合物,并穿NPC进入细胞质。在细胞质内,importin β 1-RanGTP被RanGAP水解成importin β 1和RanGDP。此时,细胞质中新合成的和/或解离出的importin β 1和RanGDP等待新一轮靶蛋白的入核转运。在靶蛋白的入核转运过程中,细胞内importin β 1蛋白质水平的升高多见于癌细胞^[25-26],这是由于癌细胞增殖所需的货物,如组蛋白、糖皮质激素受体和RNA等需要importin β 1给予大量转运。因此,这一发现使得importin β 1逐渐成为抗癌药物新靶点。

3 Importin β 1蛋白质在病毒复制中的作用研究

由于病毒基因组编码能力的限制,在感染宿主细胞后不能编码病毒复制所需的所有蛋白质。因此,病毒必须利用宿主细胞蛋白和细胞结构组分来促进病毒自身的复制^[27-28]。研究表明,大多数DNA

病毒感染细胞后其基因组DNA能够进入细胞核,并利用细胞核成分进行复制;而许多RNA病毒虽然被认为仅在细胞质中复制,但它们的某些蛋白却也能进入细胞核并通过抑制细胞基因的转录和翻译以及细胞免疫应答促进自身的复制^[29-32]。早期的研究发现,importin α/β 1或importin α 在病毒蛋白的入核转运过程中发挥了重要作用^[6]。近年来的研究同样发现,importin β 1可直接识别和结合携带不同类型NLS的病毒蛋白(表1),并介导其进入细胞核。

在importin β 1介导的病毒蛋白入核转运研究方面,Truant等^[9]最早发现,人免疫缺陷病毒1型(human immunodeficiency virus type 1, HIV1)Tat和Rev可通过结合importin β 1直接进入细胞核,这两种病毒蛋白均携带第一类NLS。而Roux等^[33]发现,人乳头瘤病毒16型(human papillomavirus type 16, HPV16)E6(early protein 6)蛋白携带的第一类NLS(RRQR)可通过结合importin β 1进入细胞核。随后,Ghildyal等^[34]研究发现,importin β 1可直接识别和结合人呼吸道合胞体病毒(human respiratory syncytial virus, HRSV)M蛋白携带的第三类NLS(TSKKVIPTYLRSISVRNK),介导M蛋白(matrix protein)进入细胞核后能抑制宿主细胞基因的转录和翻译,促进HRSV的复制进程。Cai等^[35]证实,水痘带状疱疹病毒(varicella-zoster virus, VZV)ORF9(open reading fragment 9)携带的第二类NLS(¹⁶RRKTTPSYSGQYRTARR³²)能被importin β 1识别和结合,其入核转运过程不需要其他importin α 蛋白的参与,但是VZV ORF9蛋白细胞核定位的作用还未得到阐释。有趣的是,Li等^[36]发现,人博卡病毒(human bocavirus, HBov)NP1蛋白中同时存在第二类 and 第三类NLS,其中第二类NLS(¹⁴KRKGSPERGERKRHW²⁸)

表1 Importin β 1直接结合的病毒蛋白及其核定位信号

Table 1 The viral proteins and their NLSs recognized directly by importin β 1

病毒 Virus	病毒蛋白 Viral protein	核定位信号 NLS	核定位信号类型 NLS type	参考文献 References
Human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1)	Tat	⁴⁹ RKKRRQRRR ⁵⁷	Type 1	[9]
	Rev	³⁵ RQARRNRRRRWR ⁴⁶	Type 1	[9]
Human papillomavirus type 16 (HPV16)	E6	¹²¹ RRQR ¹²⁴	Type 1	[33]
Human respiratory syncytial virus (HRSV)	M	¹⁵² TSKKVIPTYLRSISVRNK ¹⁷¹	Type 3	[34]
Varicella zoster virus (VZV)	ORF9	¹⁶ RRKTTPSYSGQYRTARR ³²	Type 2	[35]
Human bocavirus (HBov)	NP1	³² HHRSRSPIRHSGERGSG ⁵⁰	Type 3	[36]
Rabies virus (RV)	P	⁵³ MKRLHL ⁵⁸	Type 1	[37]
Newcastle disease virus (NDV)	M	²⁴⁷ KKGKKVIFDKIEEKIRR ²⁶³	Type 2	[38]

依赖 importin α/β 1 途径进入细胞核, 而第三类 NLS(³²HHRSRSRSPIRHSGERGSG⁵⁰)仅依赖 importin β 1 就能入核。

在 importin β 1 促进病毒复制的作用机制研究方面, Rowe 等^[37]发现, importin β 1 能直接结合狂犬病毒(rabies virus, RV)P 蛋白(phosphoprotein)携带的第一类 NLS(⁵³MKRLHL⁵⁸), 在 P 蛋白进入细胞核后能抑制宿主细胞基因转录, 调节病毒基因组的转录和复制以及宿主免疫应答, 干扰抗病毒信号通路, 从而促进病毒的复制。本课题组最近开展了新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)M 蛋白细胞核定位的分子机制研究, 发现 importin β 1 同样能结合 M 蛋白携带的第二类 NLS(²⁴⁷KKGKKVIFDKIEEKIRR²⁶³)^[38], 介导的 M 蛋白早期入核有利于调节 NDV 基因组的复制和转录水平以及促进子代病毒粒子的装配和出芽进程^[39]。目前, 国内外对病毒感染细胞过程中 importin β 1 蛋白质的表达水平是升高或是降低尚无统一论, 因为多数研究主要集中在利用 RNAi 干扰 importin β 1 基因表达抑制病毒的复制和致病性。值得注意的是, 有些病毒在感染过程中, 病毒蛋白虽然不与 importin β 1 发生相互作用, 但可降解 importin β 1 从而抑制细胞因子的产生。Gagné 等^[40]研究发现, 丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)NS3/4A 蛋白能裂解细胞内 importin β 1, 影响干扰素调节因子 3(IFN regulatory factor 3, IRF3)和核转录因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)进入细胞核, 抑制细胞产生干扰素 β 1, 进而达到逃避宿主免疫反应来促进 HCV 复制增殖的目的。因此, 综合上述研究结果来看, 病毒蛋白依赖 importin β 1 入核的特性为抗病毒治疗提供了新的设计思路, 通过阻断病毒蛋白入核转运途径或干扰 importin β 1 蛋白的表达, 可达到抑制病毒复制增殖的目的。

4 药物阻断 importin β 1 蛋白质参与的病毒复制

目前, 尚未发现有作用于 Ran 来抑制病毒蛋白入核转运的药物, 但是在药物作用于核转运受体蛋白抑制病毒复制方面取得了较好的研究成果^[41-42]。许多研究结果已证实, 核转运受体蛋白 importin β 1 间接参与的病毒蛋白入核转运同样对病毒复制和致病非常重要^[43-44]。因此, 用药物阻断 importin β 1 参与的病毒蛋白入核来抑制病毒复制逐渐成为抗病毒研究的热点。

伊维菌素是美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准可用于人体治疗的药物, 它是一种广谱、高效、低毒抗生素类抗寄生虫药。在细胞质内特异地作用于 importin α , 使之与 importin β 1 结合的位点关闭, 阻断两者的相互作用, 进而导致病毒蛋白不能入核^[45]。因此, 伊维菌素可阻断 importin β 1 参与的病毒蛋白入核转运过程。HIV-1 整合酶(integrase, IN)^[46]和登革热病毒(Dengue virus, DENV)非结构蛋白 5(non-structural protein 5, NS5)^[47]以 importin α/β 1 依赖的途径进入细胞核, 此过程对病毒的复制具有重要作用。Wagstaff 等^[45]研究发现, 用伊维菌素处理 HIV-1 或 DENV 整个感染过程中的 HeLa 细胞后, 病毒的 IN 和 NS5 蛋白在细胞核中的聚集量减少且病毒的复制能力和致病性显著下降。随后, Lundberg 等^[48]发现, 经伊维菌素处理后的 Vero 细胞感染委内瑞拉马脑炎病毒(Venezuelan equine encephalitis virus, VEEV)后, VEEV 衣壳蛋白不能进入细胞核而大量聚集在细胞质, 并且明显降低了病毒感染产生的细胞病变和病毒滴度。Tay 等^[49]同样发现, 伊维菌素可阻止 1-4 型 DENV 的 NS5 蛋白进入细胞核, 从而抑制病毒的复制。虽然, 伊维菌素也能抑制细胞中以 importin α/β 1 途径入核的细胞蛋白, 但以上几个研究组均证实, 适量的伊维菌素不会对正常细胞的活力和增殖造成影响。因此, 伊维菌素是一种安全和有效的抑制剂, 可作为临床上潜在的抗病毒感染药物。

5 结语与展望

在病毒蛋白细胞核定位的分子机制研究方面, 还有许多重要的人或动物病毒蛋白如人巨细胞病毒 UL84 和 UL94 蛋白、尼帕病毒 M 蛋白、猪瘟病毒 C 蛋白、猪流行性腹泻病毒 N 蛋白等, 与其相互作用的核转运受体蛋白还未见报道。由于病毒蛋白入核转运是一个非常复杂的过程, 除了病毒蛋白本身, 还涉及到核孔复合体、核转运受体蛋白、Ran 等多种蛋白质的参与^[50-52]。目前, 大多数研究还停留在 importin β 1 介导的病毒蛋白入核转运, 对是否依赖 Ran 的辅助缺乏进一步的研究。目前, 利用药物阻断核转运受体蛋白介导的病毒蛋白入核转运, 为治疗病毒性疾病提供了新思路和新方法。伊维菌素是已知能特异性阻断病毒蛋白以 importin α/β 1 途径入核的药物, 但目前尚未发现直接以 importin β 1 为靶

标抑制病毒复制增殖的药物。虽然有研究报道了米非司酮可以抑制importin α/β 1/病毒蛋白三元复合物的形成^[48],而对于它是否特异作用于importin α/β 1或importin β 1还存在争议。随着越来越多的病毒蛋白入核转运机制和功能以及病毒蛋白晶体结构的不断解析,实现以核转运受体蛋白为药物靶标治疗病毒性传染病将会成为可能。

参考文献 (References)

- 1 Terry LJ, Shows EB, Wente SR. Crossing the nuclear envelope: Hierarchical regulation of nucleocytoplasmic transport. *Science* 2007; 318(5855): 1412-6.
- 2 Goryaynov A, Yang W. Role of molecular charge in nucleocytoplasmic transport. *PLoS One* 2014; 9(2): e88792.
- 3 Woerner AC, Frottin F, Hornburg D, Feng LR, Meissner F, Patra M, *et al.* Cytoplasmic protein aggregates interfere with nucleocytoplasmic transport of protein and RNA. *Science* 2016; 351(6269): 173-6.
- 4 Conti E, Muller CW, Stewart M. Karyopherin flexibility in nucleocytoplasmic transport. *Curr Opin Struct Biol* 2006; 16(2): 237-44.
- 5 Xu D, Farmer A, Chook YM. Recognition of nuclear targeting signals by karyopherin-beta proteins. *Curr Opin Struct Biol* 2010; 20(6): 782-90.
- 6 Goldfarb DS, Corbett AH, Mason DA, Harreman MT, Adam SA. Importin α : A multipurpose nuclear-transport receptor. *Trends Cell Biol* 2004; 14(9): 505-14.
- 7 Yoshimura SH, Kumeta M, Takeyasu K. Structural mechanism of nuclear transport mediated by importin beta and flexible amphiphilic proteins. *Structure* 2014; 22(12): 1699-710.
- 8 Kimura M, Imamoto N. Biological significance of the importin-beta family-dependent nucleocytoplasmic transport pathways. *Traffic* 2014; 15(7): 727-48.
- 9 Palmeri D, Malim MH. Importin β can mediate the nuclear import of an arginine-rich nuclear localization signal in the absence of importin α . *Mol Cell Biol* 1999; 19(2): 1218-25.
- 10 Christie M, Chang CW, Róna G, Smith KM, Stewart AG, Takeda AA, *et al.* Structural biology and regulation of protein import into the nucleus. *J Mol Biol* 2016; 428(10): 2060-90.
- 11 Lott K, Cingolani G. The importin β binding domain as a master regulator of nucleocytoplasmic transport. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1813(9): 1578-92.
- 12 Quan Y, Ji ZL, Wang X, Tartakoff AM, Tao T. Evolutionary and transcriptional analysis of karyopherin beta superfamily proteins. *Mol Cell Proteomics* 2008; 7(7): 1254-69.
- 13 Luo Y, Wang Z, Tian L, Li X. The function of importin β 1 is conserved in eukaryotes but the substrates may vary in organisms. *Plant Signal Behav* 2013; 8(8): e25106.
- 14 郭建林, 徐存拴. Importin的结构与功能研究进展. *中国细胞生物学学报* (Guo Jianlin, Xu Cunshuan. Research progress of structure and function of importin. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2015; 37(7): 1013-20.
- 15 Tauchert MJ, Hémonnot C, Neumann P, Köster S, Ficner R, Dickmanns A, *et al.* Impact of the crystallization condition on importin-beta conformation. *Acta Crystallogr D Struct Biol* 2016; 72: 705-17.
- 16 Parnaik VK. Nucleocytoplasmic transport of proteins and control of cellular function. *Indian J Biochem Biophys* 1996; 33(3): 164-7.
- 17 Sorokin AV, Kim ER, Ovchinnikov LP. Nucleocytoplasmic transport of proteins. *Biochemistry (Mosc)* 2007; 72(13):1439-57.
- 18 Christophe D, Christophe-Hobertus C, Pichon B. Nuclear targeting of proteins: How many different signals? *Cell Signal* 2000; 12: 337-41.
- 19 Lange A, Mills RE, Lange CJ, Stewart M, Devine SE, Corbett AH. Classical nuclear localization signals: Definition, function, and interaction with importin α . *J Biol Chem* 2007; 282(8): 5101-5.
- 20 Cingolani G, Bednenko J, Gillespie MT, Gerace L. Molecular basis for the recognition of a nonclassical nuclear localization signal by importin beta. *Mol Cell* 2002; 10(6): 1345-53.
- 21 Lowe AR, Tang JH, Yassif J, Graf M, Huang WY, Groves JT, *et al.* Importin- β modulates the permeability of the nuclear pore complex in a Ran-dependent manner. *Elife* 2015; 4: e04052.
- 22 Raices M, D'Angelo MA. Nuclear pore complexes and regulation of gene expression. *Curr Opin Cell Biol* 2017; 46: 26-32.
- 23 刘佩伟, 齐 滔, 任海云. 小G蛋白Ran在细胞周期调控中的作用. *科学通报* (Liu Peiyun, Qi Ming, Ren Haiyun. Functions of the small GTPase protein Ran in cell cycle regulation. *Chinese Science Bulletin*) 2011; 56(30): 2472-7.
- 24 Harel A, Forbes DJ. Importin beta: Conducting a much larger cellular symphony. *Mol Cell* 2004; 16(3): 319-30.
- 25 van der Watt PJ, Maske CP, Hendricks DT, Parker MI, Denny L, Govender D, *et al.* The Karyopherin proteins, Crm1 and Karyopherin beta1, are overexpressed in cervical cancer and are critical for cancer cell survival and proliferation. *Int J Cancer* 2009; 124(8): 1829-40.
- 26 Angus L, van der Watt PJ, Leaner VD. Inhibition of the nuclear transporter, Kpn β 1, results in prolonged mitotic arrest and activation of the intrinsic apoptotic pathway in cervical cancer cells. *Carcinogenesis* 2014; 35(5): 1121-31.
- 27 Qin Y, Zheng SJ. Infectious bursal disease virus-host interactions: Multifunctional viral proteins that perform multiple and differing jobs. *Int J Mol Sci* 2017; 18(1): e161.
- 28 Wang Y, Zhang P. Recent advances in the identification of the host factors involved in dengue virus replication. *Virology* 2017; 32(1): 23-31.
- 29 Wulan WN, Heydet D, Walker EJ, Gahan ME, Ghildyal R. Nucleocytoplasmic transport of nucleocapsid proteins of enveloped RNA viruses. *Front Microbiol* 2015; 6: 5-33.
- 30 Weidman MK, Sharma R, Raychaudhuri S, Kundu P, Tsai W, Dasgupta A. The interaction of cytoplasmic RNA viruses with the nucleus. *Virus Res* 2003; 95(1/2): 75-85.
- 31 Durmus S, Ülgen KÖ. Comparative interactomics for virus-human protein-protein interactions: DNA viruses versus RNA viruses. *FEBS Open Bio* 2017; 7(1): 96-107.
- 32 李永涛, 王川庆. 流感病毒逃避宿主天然免疫抗病毒应答研究进展. *畜牧兽医学报* (Li Yongtao, Wang Chuanqing. Evasion of host innate immune antiviral responses by influenza viruses. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*) 2015; 46(4): 526-33.

- 33 Le Roux LG, Moroianu J. Nuclear entry of high-risk human papillomavirus type 16 E6 oncoprotein occurs via several pathways. *J Virol* 2003; 77(4): 2330-7.
- 34 Ghildyal R, Ho A, Wagstaff KM, Dias MM, Barton CL, Jans P, *et al.* Nuclear import of the respiratory syncytial virus matrix protein is mediated by importin beta1 independent of importin alpha. *Biochemistry* 2005; 44(38): 12887-95.
- 35 Cai M, Wang S, Xing J, Zheng C. Characterization of the nuclear import and export signals, and subcellular transport mechanism of varicella-zoster virus ORF9. *J Gen Virol* 2011; 92(3): 621-6.
- 36 Li Q, Zhang ZF, Zheng ZH, Ke XL, Luo HL, Hu Q, *et al.* Identification and characterization of complex dual nuclear localization signals in human bocavirus NP1. *J Gen Virol* 2013; 94(6): 1335-42.
- 37 Rowe CL, Wagstaff KM, Oksayan S, Glover DJ, Jans DA, Moseley GW. Nuclear trafficking of the rabies virus interferon antagonist P-protein is regulated by an importin-binding nuclear localization sequence in the C-terminal domain. *PLoS One* 2016; 11(3): e0150477.
- 38 段志强, 嵇辛勤, 许厚强, 赵佳福, 许海旭, 胡顺林, 等. KPNB1和Ran蛋白共同介导新城疫病毒基质蛋白的入核转运. *微生物学报* (Duan Zhiqiang, Ji Xinqin, Xu Houqiang, Zhao Jiafu, Xu Haixu, Hu Shunlin, *et al.* The nuclear import of Newcastle disease virus matrix protein depends on KPNB1 and Ran protein. *Acta Microbiologica Sinica*) 2017; 57(1): 109-20.
- 39 段志强, 胡顺林, 刘秀梵. 新城疫病毒与其它副黏病毒基质蛋白的功能比较. *微生物学报* (Duan Zhiqiang, Hu Shunlin, Liu Xiufan. Function comparison of the matrix protein between Newcastle disease virus and other paramyxoviruses—A review. *Acta Microbiologica Sinica*) 2016; 56(7): 1070-8.
- 40 Gagné B, Tremblay N, Park AY, Baril M, Lamarre D. Importin β 1 targeting by Hepatitis C virus NS3/4A protein restricts IRF3 and NF- κ B signaling of IFNB1 antiviral response. *Traffic* 2017; 18(6): 362-77.
- 41 Zakaryan H, Stamminger T. Nuclear remodelling during viral infections. *Cell Microbiol* 2011; 13(6): 806-13.
- 42 Lopez-Denman AJ, Mackenzie JM. The importance of the nucleus during flavivirus replication. *Viruses* 2017; 9(1): e14.
- 43 Ghildyal R, Ho A, Jans DA. Central role of the respiratory syncytial virus matrix protein in infection. *FEMS Microbiol Rev* 2006; 30(5): 692-705.
- 44 Resa-infante P, Gabriel G. The nuclear import machinery is a determinant of influenza virus host adaptation. *Bioessays* 2013; 35(1): 23-7.
- 45 Wagstaff KM, Sivakumaran H, Heaton SM, Harrich D, Jans DA. Ivermectin is a specific inhibitor of importin alpha/beta-mediated nuclear import able to inhibit replication of HIV-1 and dengue virus. *Biochem J* 2012; 443: 851-6.
- 46 Jayappa KD, Ao Z, Yang M, Wang J, Yao X. Identification of critical motifs within HIV-1 integrase required for importin α 3 interaction and viral cDNA nuclear import. *J Mol Biol* 2011; 410(5): 847-62.
- 47 Pryor MJ, Rawlinson SM, Butcher RE, Barton CL, Waterhouse TA, Vasudevan SG, *et al.* Nuclear localization of dengue virus nonstructural protein 5 through its importin α/β -recognized nuclear localization sequences is integral to viral infection. *Traffic* 2007; 8(7): 795-807.
- 48 Lundberg L, Pinkham C, Baer A, Amaya M, Narayanan A, Wagstaff KM, *et al.* Nuclear import and export inhibitors alter capsid protein distribution in mammalian cells and reduce venezuelan equine encephalitis virus replication. *Antiviral Res* 2013; 100(3): 662-72.
- 49 Tay MY, Fraser JE, Chan WK, Moreland NJ, Rathore AP, Wang C, *et al.* Nuclear localization of dengue virus (DENV) 1-4 non-structural protein 5; protection against all 4 DENV serotypes by the inhibitor ivermectin. *Antiviral Res* 2013; 99(3): 301-6.
- 50 Li M, Wang S, Cai M, Guo H, Zheng C. Characterization of molecular determinants for nucleocytoplasmic shuttling of PRV UL54. *Virology* 2011; 417(2): 385-93.
- 51 Huang Y, Zhang J, Halawa MA, Yao S. Nuclear localization signals of varicella zoster virus ORF4. *Virus Genes* 2014; 48(2): 243-51.
- 52 Cai M, Huang Z, Liao Z, Chen T, Wang P, Jiang S, *et al.* Characterization of the subcellular localization and nuclear import molecular mechanisms of herpes simplex virus 1 UL2. *Biol Chem* 2017; 398(4): 509-17.