中国科学: 生命科学 2024 年 第 54 卷 第 12 期: 2245 ~ 2262
SCIENTIA SINICA Vitae lifecn.scichina.com
《中国科学》杂志社 SCIENCE CHINA PRESS

评 述 EB病毒发现60周年: 回顾与展望专题

EB病毒结构研究进展

钟玲[1,2†], 王昱霏[2†], 杨澄宇[3], 黄洋[3], 何会萍[4], 郑清炳[3], 张晓[1*]

1. 重庆医科大学药学院, 重庆 400016;
2. 华南恶性肿瘤防治全国重点实验室, 广东省鼻咽癌诊治研究重点实验室, 广东省恶性肿瘤临床医学研究中心, 中山大学肿瘤防治中心, 广州 510060;
3. 厦门大学传染病疫苗研发全国重点实验室, 厦门大学国家传染病诊断试剂与疫苗工程技术研究中心, 厦门 361005;
4. 广州市妇女儿童医疗中心, 广州 510623;
† 同等贡献
* 联系人, E-mail: zhangxiao@cqmu.edu.cn

收稿日期: 2024-09-13; 接受日期: 2024-11-07; 网络版发表日期: 2024-12-06
国家自然科学基金(批准号: 82371832)、重庆市自然科学基金(批准号: 2023NSCQ-MSX1536)和重庆市教育委员会科学技术研究计划(批准号: KJQN202300453)资助

摘要 EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)是一种在人类中广泛传播的γ疱疹病毒, 其感染与传染性单核细胞增多症、多种肿瘤、自身免疫病及长新冠等的发生发展息息相关. EBV造成严重的疾病负担, 但目前尚无有效的疫苗或特异的抗病毒药物上市. EBV属于双链DNA病毒, 具有疱疹病毒典型的包膜-间层-核衣壳三层结构. 近年来, 随着结构生物学技术的进步, EBV包膜糖蛋白、间层蛋白及核衣壳蛋白的空间结构得到解析, 并且蛋白之间的相互作用网络及衣壳蛋白亚基之间的相互作用得到阐明, 这将为EBV疫苗、抗体及小分子抑制剂的合理设计提供指导依据. 此外, EBV相关蛋白的结构解析将有助于理解病毒与宿主间的相互作用, 深入探究病毒蛋白的功能. 本文将对EBV结构、病毒组装与释放过程、目前已报道的EBV包膜糖蛋白、间层蛋白及核衣壳蛋白的结构与功能以及这三类蛋白间的相互作用网络进行综述, 旨在为以结构为基础的疫苗及特异性小分子药物设计等提供理论基础.

关键词 EB病毒, 包膜糖蛋白, 间层蛋白, 核衣壳蛋白, 抗病毒策略

EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)属于疱疹病毒科γ亚家族, 是一种双链DNA病毒, 其基因组大小约为172 kb, 编码超过80种蛋白[1,2]. EBV在人类中广泛传播, 全世界约有95%以上的成年人携带EBV[3]. EBV感染与多种肿瘤的发生发展密切相关, 包括霍奇金淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、NK/T细胞淋巴瘤等多种淋巴细胞瘤, 以及鼻咽癌、胃癌等多种上皮细胞肿瘤[4]. 此外, 器官移植病人及艾滋病人等免疫抑制人群更易罹患EBV相关肿瘤[5,6]. 据统计, 全球每年新增EBV相关肿瘤患者约200000例, 包括鼻咽癌78100例, 霍奇金淋巴瘤28600例, 伯基特淋巴瘤6700例, 胃癌84050例等[7]. 另外, EBV感染还会导致人单核细胞增多症以及多种自身免疫性疾病, 如多发性硬化症等[8]. EBV感染导致的相关疾病已造成严重的负担, 但是目前临床上仍缺

引用格式: 钟玲, 王昱霏, 杨澄宇, 等. EB病毒结构研究进展. 中国科学: 生命科学, 2024, 54: 2245–2262
Zhong L, Wang Y F, Yang C Y, et al. Research progress on the structure of Epstein-Barr virus (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2024, 54: 2245–2262, doi: 10.1360/SSV-2024-0182

© 2024《中国科学》杂志社

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

乏针对EBV的有效疫苗和特效药物.

EBV具有典型的疱疹病毒三层框架结构(图1). 其中, 最外层为脂质双分子包膜(envelop), 负责病毒感染的糖蛋白位于该层. 中间层为疱疹病毒特有的间层(tegument), 由多种大小、结构不一的蛋白组成, 间层对于维持病毒的稳定性及感染性有重要意义. 最内层为准十二面体核衣壳(nucleocapsid), 病毒基因组位于该层中, 衣壳组装及成熟对于形成具有感染性的EBV颗粒至关重要.

EBV核衣壳蛋白、间层蛋白及包膜糖蛋白在EBV生命周期中发挥重要作用, 解析这三类蛋白的结构将有助于分析病毒-宿主相互作用及研发抗病毒策略. 本综述将详细介绍EBV结构、病毒组装及释放过程、目前已知的EBV核衣壳蛋白、间层蛋白及包膜糖蛋白结构及其功能以及这三类蛋白间的相互作用网络.

1 EBV感染、包装及释放

EBV主要通过唾液传播, 在初次感染后, EBV在B细胞中建立终生潜伏[9]. 潜伏的EBV能够再激活, 进而包装释放新的子代病毒, 再次感染同一宿主的细胞[10]. 同时, 子代病毒也能释放至唾液中, 通过唾液传播完成宿主间的传染[10]. EBV具有B淋巴细胞和上皮细胞的双重感染嗜性, 且EBV感染两种细胞的机制显著不同[11]. EBV通过与细胞膜融合进入上皮细胞和B淋巴母细胞样细胞, 而感染B淋巴细胞时需要内吞作用[12,13]. 此外, 多种EBV包膜蛋白参与病毒感染细胞的过程, 主要包括gp350, gB, gL, gH, gp42, BMRF2等[14](图2).

EBV感染B细胞时, EBV表面丰度最高的糖蛋白gp350/220与受体CD21(CR2)/CD35(CR1)的识别、结合以拉近病毒与细胞的距离[15~17]. 而后, gH/gL/gp42异源三聚体复合物中的gp42蛋白C端与其受体HLA-II结合, 使其构象改变为“关闭”状态[11,18]. 最终, 膜融合信号由变构的gH/gL/gp42复合物传递至gB, 进而启动膜融合完成整个感染过程[19]. 而在感染上皮细胞时, 首先通过膜表面糖蛋白BMRF2与细胞表面的整合素结合以拉近病毒与上皮细胞的空间距离, 促进EBV感染基底层的极性上皮细胞[20]. 然后, gH/gL异源二聚体复合物与受体分子EphA2(ephrin receptor A2)和/或αvβ5/β6/β8-整合素结合, 并进一步激活融合蛋白gB, gB介导宿主细胞与病毒包膜发生膜融合, 最终完成病毒的感染过程[21~23]. 此外, gH/gL与其受体NMHC-II A(non-muscle myosin heavy chain II A)及gB与其受体NRP1 (neuropilin-1)相互作用也进一步促进病毒感染[24,25].

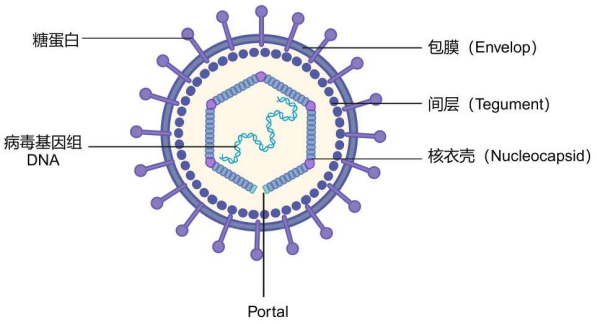

图 1 EB病毒结构. Portal: 病毒基因组释放和装配的通道
Figure 1 Schematic diagram of EBV structure. Portal: the channel for virus genome release and assembly

在经过病毒黏附和膜融合后, 病毒核衣壳蛋白与微管相互作用而运输至细胞核, 锚定于核孔处, 而后病毒基因组被释放入细胞核内, 以episome的形式存在于宿主细胞核中, 建立终生潜伏[26,27](图2). 当接收到再激活信号后, EBV进行裂解性复制, 其中病毒包装及出芽是关键步骤. 宿主细胞核是病毒极早期、早期及晚期基因以及基因组复制的场所, 在完成核衣壳的组装及DNA包裹后病毒包装和出芽的过程转移至细胞质中(图2). 目前普遍认同的疱疹病毒包装出芽的机制为二次包被模型(包被-脱包被-再包被), 即衣壳蛋白及病毒基因组的包装位于细胞核内, 在内层核膜经历初级包被, 在外层核膜经历脱包被, 而后, 在细胞质中与膜性细胞器结合获得间层囊膜及外层包膜(再包被), 然后完整的病毒粒子通过出芽进入高尔基体衍生腔室中, 通过细胞分泌途径完成病毒颗粒的释放[28].

2 EBV核衣壳结构

疱疹病毒编码多种衣壳蛋白, 包括主要衣壳蛋白(major capsid protein, MCP)、最小衣壳蛋白(smallest capsid protein, SCP)、三联体蛋白(triplex)和portal蛋白, 衣壳的组装及成熟在病毒感染及复制过程中发挥了关键作用[29,30]. 衣壳蛋白之间的相互作用及间层蛋白的加固作用共同稳定了疱疹病毒的核衣壳结构[31,32].

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

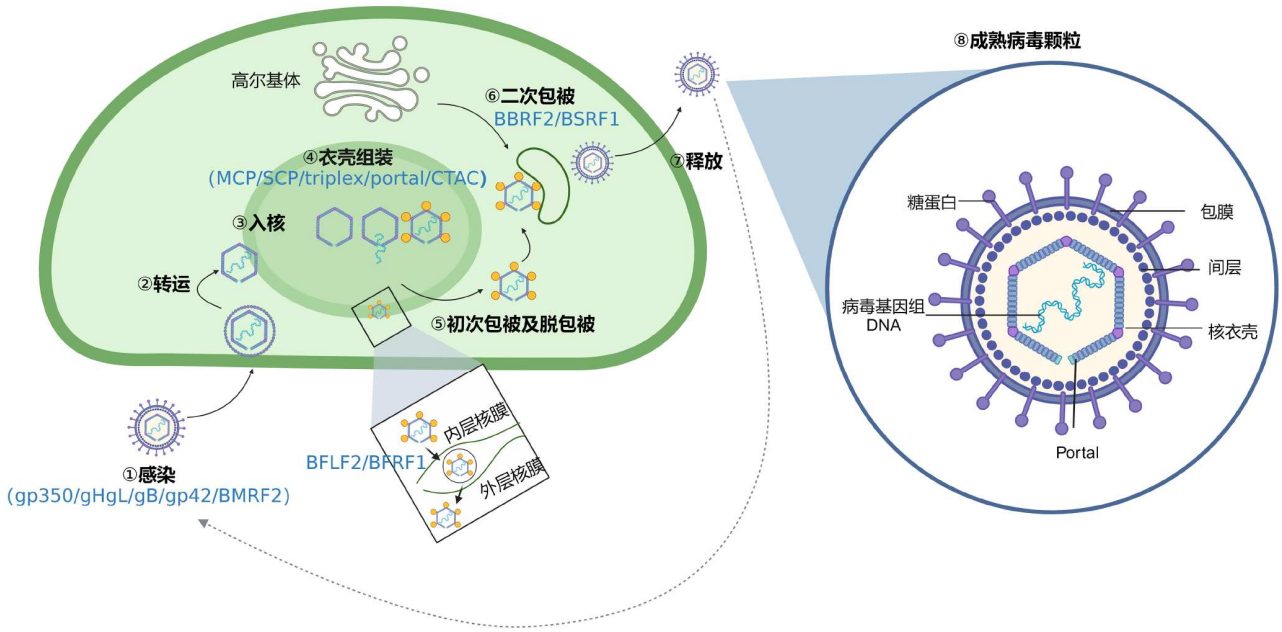

图 2　EBV感染、组装及释放过程
Figure 2　Diagram of the process of EBV infection, assembly and shedding

衣壳的组装及成熟主要在宿主细胞核内完成，可分为两个阶段：衣壳的装配及基因组的包裹[33~36]. 在核衣壳成熟时，衣壳蛋白首先在支架蛋白的协助下组装为原衣壳，而后在蛋白酶的作用下支架蛋白酶切释放，衣壳蛋白转变为二十面体对称成熟形态(T=16)，而病毒基因组DNA在终止酶复合物的识别和辅助下由portal进入衣壳中[33~36]. 衣壳成熟过程中会产生三种不同形式的颗粒，其中仅有C型衣壳包裹了完整的基因组，A型及B型均有成熟的衣壳形态，B型衣壳包含未释放的支架蛋白[33,34]. 只有B型和C型衣壳能够进入细胞质进而获取间层蛋白，随后出芽释放出带包膜的粒子. C型衣壳最终能够形成具有感染性的病毒颗粒，而B型衣壳则成为非感染性包膜颗粒.

余学奎团队[37]利用EBV阳性B95-B细胞系优化病毒培养方法，制备了EBV病毒样品，并通过冷冻电子显微镜解析了核衣壳的全原子结构，首次报道了高分辨率(4.1 Å)的EBV衣壳二十面体结构、衣壳相连间层蛋白(capsid-associated tegument complex, CATC)结构及基因组进出通道portal的结构，描绘了EBV衣壳蛋白、CATC与衣壳蛋白、portal与衣壳蛋白、portal与病毒DNA全方位的相互作用细节(图3). 余学奎团队[37]利用解析的二十面体衣壳结构及5次轴顶点结构从头搭建了EBV核衣壳各衣壳蛋白的结构模型，包括16个MCP、16个SCP、5个Tri1及10个Tri2A/2B(图3B). 其中，MCP结构可分为tower region和floor region，MCP floor之间存在的广泛相互作用稳定了EBV核衣壳，主要包括三种互作形式，两个相邻MCP之间的β-augmentation、MCP dimerization域中两对α-helix的疏水作用力及MCP亚基N-lasso结构域的2个β-strand向外延伸与P2和P3之间5-strands β片层形成7-strands β片层结构. EBV SCP结合于相邻两个MCP的顶部，Triplex结构(由1个Tri1和两个Tri2异构体(Tri2A和Tri2B)组成)则作为“塞子”堵住MCP floor区域的孔洞. Tri2由clamp, trunk及embracing arm三个结构域组成，通过不同的embracing arm的结构相互结合. Tri1蛋白则由三个结构域组成，N-anchor, trunk及third wheel，Tri1通过third-wheel与Tri2A及Tri2B相互交叉的embracing arm结合形成异源三聚体.

衣壳portal结构解析一直是疱疹病毒领域的研究热点，不同疱疹病毒的portal结构具有较大差异. Portal呈蘑菇样结构，可划分为wing, crown, stem, clip及β-hairpin，portal位于衣壳其中一个5次轴顶点下方，自身呈12次对称[38,39]. 余学奎团队[37]解析了EBV核衣壳portal顶点各组分的高分辨率结构，建立了portal蛋白

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

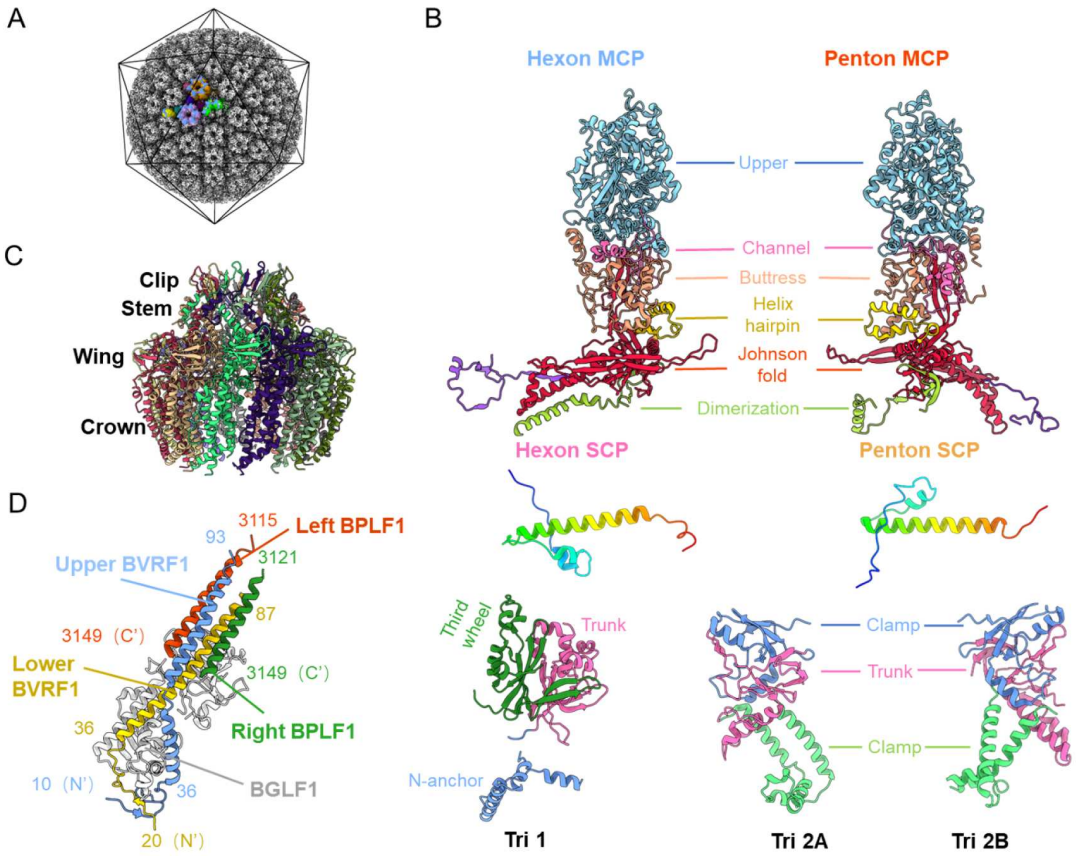

图 3 EBV核衣壳、portal及CATC结构. A: EBV核衣壳二十面体结构(PDB ID: 7BSI); B: EBV衣壳蛋白结构(PDB ID: 7BSI); C: EBV基因组DNA进出通道portal结构(PDB ID: 7BQT, 7BQX); D: EBV衣壳相连间层蛋白CATC结构(PDB ID: 7BR7)

Figure 3 Structures of nucleic capsid, portal and CATC encoded by EBV. A: Icosahedral structure of the EBV capsid (PDB ID: 7BSI); B: structure of the EBV capsid proteins (PDB ID: 7BSI); C: structure of the EBV portal (PDB ID: 7BQT, 7BQX); D: structure of the EBV CATC (PDB ID: 7BR7)

BBRF1的原子模型, BBRF1包括wing(aa 16~53, 133~160和203~252), crown(aa 54~132, 161~202和516~577), stem(aa 253~280和474~497), clip (aa281~473, 包括未建模区域aa 285~432)和β-hairpin (aa 498~515)五个结构域(图3C). BBRF1单体间相互作用结构稳定了portal十二聚体结构, 且有助于DNA包裹过程dwell与burst的构象转变. EBV Portal具有两个与DNA相互作用的区域, 第一个位于stem和crown域之间的交界面, 由12个与portal通道垂直的β-hairpin组成的狭窄channel valve, 直径25 Å. 第二个为直径31 Å的隧道结构, 由12组3-strands β片层组成. Portal与病毒DNA的相互作用主要由BBRF1的4个氨基酸(H79, K90, R155和R176)介导. Portal与衣壳蛋白间的也存在两个相互作用区域, 分别为portal clip turret区域与周围Tri1 trunk结构相互作用及portal wing结构域与衣壳底部多个元件的广泛作用.

此外, 余学奎团队[37]发现CATC在portal周围对称分布, 虽然EBV包含较大的基因组, 但EBV核衣壳的CATC占比显著低于KSHV, 提示CATC可能具有除稳定衣壳外的其他作用, 并基于CATC结构分别搭建了CATC三组分蛋白BGLF1, BVRF1和BPLF1的原子模型(图3D). 该研究发现了CATC可以同时与两个triplex相互作用, 并鉴定了CATC上参与衣壳相互作用的关键位点[37].

疱疹病毒基因组释放过程是一个压力依赖性的过程. 与噬菌体portal结构相比, EBV portal的出口仅由一个无序cap覆盖, 且EBV核衣壳结构不如噬菌体牢固. 因此, 柔性五聚体赋予了EBV核衣壳弹性, 从而降低portal cap的压力, 避免病毒基因组错误释放. 此外, 原位解析得到的portal运输基因组的通道具有更紧密的

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

构象，因此成熟衣壳中位于portal通道里的terminal DNA能够被通道阀固定，进一步降低portal cap的压力. 而CATC的结合能够降低核衣壳的总体柔性，进而实现对核衣壳内部压力的调节，维持感染过程中的基因组稳定及释放达到平衡.

EBV病毒核衣壳组装时，通过portal的结构变化、MCP五聚体顶点的结构柔性与CATC的压力调节作用三个方面，保证了病毒基因组的包装、转运的正确完成. EBV采用一种新的“压力调节”机制以实现病毒基因组包装、稳定及释放的精准调控. EBV衣壳、portal及CATC的结构和相互作用的解析将为研发以阻断病毒衣壳成熟为基础的小分子抑制剂的研发提供依据.

3　EBV间层结构

间层蛋白可分为外间层蛋白和内间层蛋白，其种类众多，目前已报道12种EBV间层蛋白(表1)及8种可能是间层蛋白的EBV蛋白(表2). 表1中的12种间层蛋白及表2中除BALF1，BGLF3.5，BRLF1和BRRF2外，均能通过质谱在病毒颗粒中检测到[40]. 大部分间层蛋白在三种疱疹病毒家族中(α-, β, γ-)保守，其中BKRF4, BLRF2及BNRF1为γ-疱疹病毒所特有的. 间层蛋白在病毒生活周期中发挥多重功能，包括将核衣壳转运至细胞核、病毒组装及病毒出芽等，此外，间层蛋白还能够反式激活病毒极早期基因和宿主基因的表达，调节宿主信号转导及先天免疫应答[41]. 疱疹病毒复杂的组装方式使得不同间层蛋白被添加至病毒颗粒的阶段不同, 内层间层蛋白与核衣壳相互作用, 而外层间层蛋白可能通过与病毒糖蛋白胞质尾相互作用而被招募[41].

相比于核衣壳蛋白和包膜糖蛋白，关于间层蛋白的结构报道较少，这是由于间层蛋白包含有丰富的无序区域进而阻碍结晶，并且大部分间层蛋白很小，无法在冷冻电子显微镜研究中被明确鉴定. 目前，仅有少部分EBV间层蛋白的结构被报道，包括BBRF2 (6LQN)，BSRF1(6LQO)，BNRF1(5kDM)，BKRF4 (7VCQ), BORF2(7RW6)及CATC(7BR7, 7BR8).

3.1　BBRF2/BSRF1

高嵩团队[42]解析了EBV BBRF2/BSRF1结构，并阐述了其组成的多聚复合物在病毒复制、病毒释放及二次包被过程中发挥重要的作用. 球状BBRF2包含一个中央6-strands β片层结构，其周围被10个螺旋围绕，该结构称为疱疹病毒间层折叠1(herpesvirus tegument fold 1, HTF1)(对于HSV UL17来说，称为保守UL17间层组装/释放结构域(CUSTARD fold))(图4A). BBRF2包含一个以Arg72残基为中心的亲水核心，从Arg27到BBRF2表面形成了一个充满水分子的溶剂通道. 解析得到的BSRF1结构是一种自然降解的截短结构(aa 41~139, BSRF1Δ), 包含两个反平行螺旋及一个垂直于该螺旋的C端短螺旋(图4A). BBRF2与BSRF1Δ形成了一个6:6杂十二聚体，在与BSRF1Δ形成复合物前后，BBRF2仅有一个N端环发生了重定位，其余结构均未发生构象变化，其相互作用以大量疏水相互作用为主. BSRF1可以将细胞质定位的BBRF2转运到高尔基体,

表 1　EBV间层蛋白
Table 1　Tegument proteins encoded by EBV

EBV	HSV 同源蛋白	HCMV 同源蛋白	KSHV 同源蛋白
BBLF1(MyrP)	UL11	UL99/pp28	ORF38
BBRF2	UL7	UL103	ORF42
BGLF1(CATC)	UL17	UL93	ORF32
BGLF2(MyrPBP)	UL16	UL94	ORF33
BGLF4(vCDK)	UL13	UL97	ORF36
BOLF1(LTPBP)	UL37	UL47	ORF63
BPLF1(LTP/CATC)	UL36	UL48	ORF64
BSRF1(PalmP)	UL51	UL71	ORF55
BVRF1(CATC)	UL25	UL77	ORF19
BKRF4	–	–	ORF45
BLRF2	–	–	ORF52
BNRF1(MTP)	–	–	ORF75

表 2　潜在的EBV间层蛋白
Table 2　Tegument proteins candidates encoded by EBV

EBV	HSV 同源蛋白	HCMV 同源蛋白	KSHV 同源蛋白
BALF1(vBCL2)	–	–	ORF16
BALF2(ssDNABP)	UL29	UL57	ORF6
BGLF3.5	UL14	–	ORF35
BMRF1(EA-D)	UL42	UL44	ORF59
BORF2(RR)	UL39	UL45	ORF61
BRLF1(Rta)	–	–	ORF50
BRRF2	–	–	ORF48
BXLF1(TK)	UL23	–	ORF21

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

并结合病毒糖蛋白, 如gB和gH/gL, 此外, BBRF2可以与核衣壳MCP及间层蛋白BPLF1相互作用. 因此, BBRF2/BSRF1复合物介导EBV核衣壳与高尔基体的结合, 进而在高尔基体获得含有糖蛋白的包膜, 完成EBV的二次包被.

3.2 BNRF1

EBV间层蛋白BNRF1的C端结构域与细胞嘌呤生物合成酶FGARAT相似, 这类蛋白的N端结构域能够与宿主抗病毒机制中多种组分相互作用, 包括SP100, DAXX和RIG-I[43]. DAXX是组蛋白H3.3的关键伴侣, 对染色质结构的形成起着主要作用, 而BNRF1 N端与DAXX相互作用, 对驱动B细胞增殖的EBV潜伏期基因的选择性表达至关重要[44,45]. BNRF1由DAXX结合结构域(DAXX-interaction domain, DID)结构域、PurM样结构域和GATase结构域组成. 包含BNRF1 DID-DAXX 组蛋白结合域(DAXX HBD)-组蛋白H3.3-H4二聚体的四元复合物结构已经得到解析[46]. 结构显示, BNRF1 DID位于复合物顶端, 折叠为球形α/β结构域(图4B). BNRF1 DID具有由7个反式平行的β片层(β1~β7)组成的核心折叠, 并在两侧围绕5个α螺旋(α1~α5). BNRF1 DID通过4个环与DAXX HBD-H3.3-H4结合, 其中连接β6和β7间的L12 loop很长, 对于结合DAXX HBD-H3.3-H4最为重要. BNRF1-DAXX相互作用使得BNRF1定位至PML核小体, 通常与宿主的抗病毒耐药性和转录抑制相关.

BNRF1-DAXX-H3.3-H4相互作用对于EBV潜伏基因的选择性激活是必需的, 但不作用于裂解期基因的转录[46]. BNRF1重编程了DAXX组蛋白伴侣的功能, 从而促进诱导B细胞永增殖和永生化所必需的EBV潜伏期基因表达[46]. 此外, EBV潜伏感染细胞表达BNRF1, 是$CD4^+$及$CD8^+$ T细胞识别的靶标[47,48].

3.3 BKRF4

间层蛋白BKRF4是一种组蛋白分子伴侣, 其N端为HBD, 能够结合组蛋白H2A-H2B、H3-H4及细胞染色质, 抑制宿主DNA损伤反应[49,50]. BKRF4 C端脯氨酸富集结构域与子代病毒的生产和感染性相关[51].

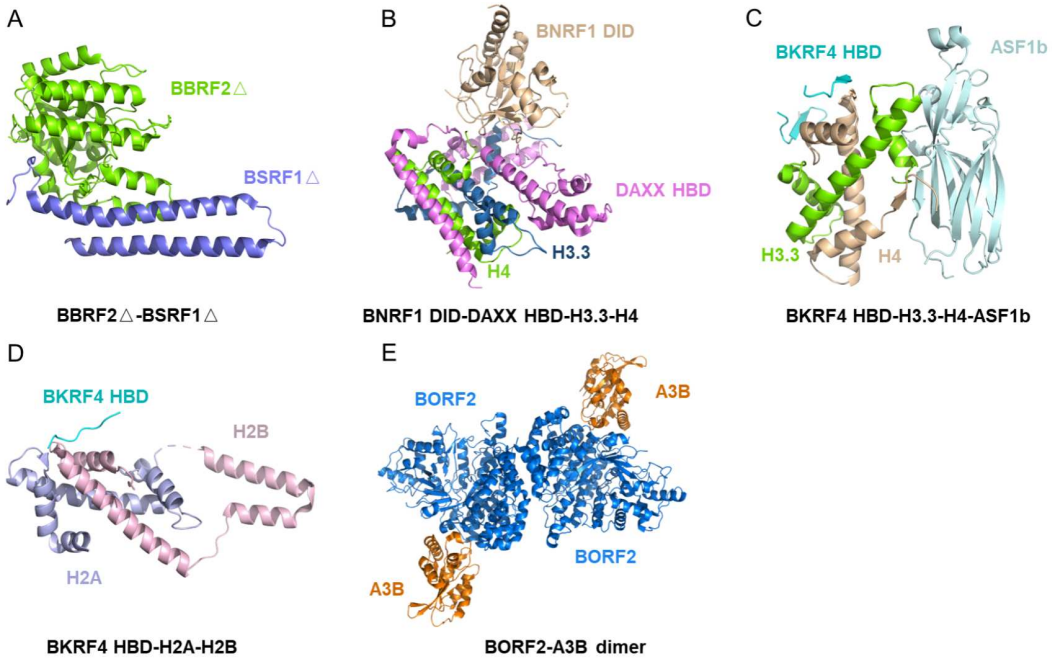

图 4 EB病毒部分间层蛋白结构. A: BBRF2/BSRF1结构(PDB ID: 6LQO); B: BNRF1 DID-DAXX HBD-H3.3-H4结构(PDB ID: 5KDM); C: BKRF4 HBD-H3.3-H4-ASF1b结构(PDB ID: 7VCQ); D: BKRF4 HBD-H2A-H2B结构(PDB ID: 7VCL); E: BORF2-A3Bctd结构(PDB ID: 7RW6)

Figure 4 Structures of presentative tegument proteins encoded by EBV. A: Structure of BBRF2/BSRF1 (PDB ID: 6LQO); B: structure of BNRF1 DID-DAXX HBD-H3.3-H4 (PDB ID: 5KDM); C: structure of BKRF4 HBD-H3.3-H4-ASF1b (PDB ID: 7VCQ); D: structure of BKRF4 HBD-H2A-H2B (PDB ID: 7VCL); E: structure of BORF2-A3Bctd (PDB ID: 7RW6)

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

BKRF4 HBD能够与人组蛋白伴侣ASF1形成共伴侣, BKRF4 HBD-组蛋白H3-H4二聚体-ASF1b四元复合物、BKRF4 HBD-组蛋白H2A-H2B二聚体的三元复合物结构得到解析[49,52]. BKRF4 HBD的两个保守基序D/EL和DEF/Y/W分别代表了组蛋白分子伴侣靶向H3-H4和H2A-H2B的共同基序[49]. 在BKRF4 HBD-组蛋白H3-H4二聚体-ASF1b四元复合物中, BKRF4两个区域60~67 aa和91~99 aa形成两个反向平行β片层, 主要结合H4, 不与H3-H4四聚体界面接触(图4C)[49]. BKRF4通过"cap-anchor"模式结合H2A-H2B二聚体(图4D)[49]. BKRF4 HBD通过N端、DWP区域(D81, W84, P86)和C端与H2A-H2B二聚体相互作用, 在cap区域, 突变D81为丙氨酸, 与H2A-H2B二聚体亲和力将会大大降低, 而在anchor区域突变W84为丙氨酸后无法再与H2A-H2B二聚体结合[49,52]. 破坏BKRF4-H2A-H2B相互作用会损害BKRF4-HBD与核小体之间在体外的结合, 并抑制DNA断裂区域对BKRF4 HBD在体内的募集[52]. BKRF4通过结合核小体抑制DNA损伤反应, 提示该蛋白可能参与了肿瘤发生过程[50].

3.4 BORF2

BORF2是核糖核苷酸还原酶(ribonucleotide reductase, RNR)的大亚基, 参与核苷酸的生物合成. BORF2缺失突变降低子代病毒的产量, 且BORF2与APOBEC3B(A3B)结合, 抑制A3B的活性, 以维持基因组完整性, 从而增加G1/S期细胞的数量[53~55].

BORF2-A3B复合物结构已得到解析, BORF2中两个新插入的存在将这种病毒酶与所有其他Ia类RNRs区分开(图4E)[54]. 首先, 短螺旋插入(short-helix insertion, SHI)是BORF2中4个较大的结构保守螺旋之间的延伸环的一部分, SHI贡献了多个与A3B相互作用位点, 其中Y134D突变后不能相互结合, 而Y134A突变则削弱了相互作用. 其次, 锚定于RNR核心的长环插入(long-loop insertion, LLI)与SHI及周围螺旋相互作用, LLI直接接触SHI而SHI又反过来与A3B结合, 因此LLI可能是BORF2与A3B结合的必要条件. 虽然某些I类RNRs在其N末端包含一个保守的可调节ATP活性的结构域, 但BORF2中缺少此结构域. BORF2中的这一区域有助于介导二聚体形成, 可能促进其与另一个RNR亚单位BaRF1的结合[54]. 具体来说, BORF2-BaRF1复合体可能有助于增强核内dNTP浓度, 而BORF2-A3B复合体在复制过程中作用于病毒基因组DNA[54]. 此外, BORF2的二聚化活性对于促进A3B从核内重定位到细胞质至关重要[54]. 这种病原-宿主相互作用机制为开发阻断这些相互作用的药物提供了理论基础, 并为设计DNA脱氨酶抑制剂提供了结构信息.

3.5 CATC

所有疱疹病毒的CATC都连接着核衣壳和包膜蛋白, EBV CATC由1个BGLF1、2个BVRF1和2个BPLF1组成, 完全占据EBV核衣壳protal顶点的5个位点. BVRF1间层蛋白由两个不同的区域组成: N端结构域和螺旋结构域. N端结构域有两个构象: 上构象(aa 10~36), 下构象(aa 20~36). BVRF1还含有一个螺旋结构域也有两个构象: 上构象(aa 37~93), 下构象(aa 37~87)(图3D). 在CATC模型中, 这些BVRF1构象排列成螺旋束状, 位于BGLF1分子上(图3D). 此外, BVRF1的头部结构域在CATC的螺旋束的两侧观察到两个不同的密度, 左侧的比右侧的更高. 值得注意的是, BVRF1头部结构域主要通过aa 291~314残基区域与两个相邻的MCP分子相互作用, 这种相互作用有助于核衣壳的整体稳定性[37]. BGLF1蛋白可以划分为两个区域: 前端区域, 包括N端富含β-strand的结构域(aa 1~125和aa 289~315)和三联体triplex Ta锚定结构域(aa 275~288); 后端区域, 包括C末端富含β-strand的结构域(aa 397~504)和中央部分富含螺旋结构的结构域(aa 333~396)(图3D).

EBV BGLF1和BVRF1可能参与了病毒基因组的包装, 也可能参与了核衣壳从细胞核输出过程和核衣壳脱壳. 而敲除BPLF1则会显著降低病毒DNA的合成和子代病毒的产生[56~59]. 此外, BPLF1缺失的EBV具有较低的B细胞永生化活性, 且在人源化小鼠模型中抑制肿瘤的形成[56].

3.6 其他间层蛋白

大多数在EBV包装及感染中发挥重要功能的间层蛋白目前结构尚未得到解析. 敲除BBLF1可减少子代病毒的产生, 且子代病毒不能分泌至细胞外[60,61]. BGLF2可以诱导P21使得细胞周期停滞于G1/S期, 还可激活P38 MAPK通路和JNK通路, 从而促进EBV再激活裂解复制[62~64]. BGLF2通过抑制NF-κB和干扰素

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

诱导的JAK/STAT通路，从而破坏宿主抗病毒先天免疫, 诱导病毒裂解[65~67]. 此外, BGLF2还可影响子代病毒的胞外运输及感染性[63,68]. *BGLF4*基因编码在疱疹病毒中保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 可磷酸化包括BZLF1, BMRF1, EBNA1, EBNA2, BXLF1, BGLF2在内的病毒蛋白[69~72]及包括EEF1D, P27, CHK1, RAD51, TIP60, SAMHD1在内的宿主蛋白[73~76]. 敲除BGLF4会降低子代病毒产量，研究表明BGLF4可诱导核膜解体[77], 调节微管动力学[78], 抑制IRF3通路[79], 阻断宿主染色体DNA复制[80,81]，调节EBV晚期基因的表达及核膜的初次包被[82~84]. BLRF2可形成二聚体，定位于细胞核及核边缘，敲除BLRF2不影响病毒基因的表达和复制，但会降低子代病毒感染性[85]. 此外，间层蛋白BOLF1的缺失不影响病毒DNA的复制和蛋白的表达, 但会降低EBV的感染能力[86].

4 EBV包膜糖蛋白结构

EBV感染靶细胞是多个糖蛋白参与的复杂过程, 其中核心感染过程均涉及以gH/gL为基础的入胞复合物和融合蛋白gB的参与. 对于入胞复合物及融合蛋白的结构及融合机制的研究将有助于研发有效的预防性疫苗及治疗性药物等.

4.1 gH/gL及gH/gL/gp42复合物

gH是单次跨膜糖蛋白, 而gL是一种没有跨膜区域的糖蛋白，它与gH的膜远端结构域(结构域I)共折叠, 形成稳定的1:1复合物. gL作为gH的分子伴侣，负责gH/gL复合物正确折叠、转运到细胞表面以及行使复合物的功能[87]. HSV和VZV的gH/gL异源二聚体呈现弯曲的靴状结构，而EBV和KSHV gH/gL为更线性的棒状结构[88~91].

EBV gH/gL中所有结构域延长轴排列为长棒状结构, 共分为4个主要结构域(图5A)[90]. gL与gH N端结合, 形成了异源二聚体gH/gL结构域I，该结构域是一个平坦、半球形的区域，由一层3-strands α螺旋支撑着5-strands平行/反平行β-片层组成. 5-strands β-片层中三个来自gH，两个来自gL，3-strands α螺旋中两个来自gL，一个来自gH. 结构域II具有一段无序的柔性区域(aa 79~97), 其主要二级结构可分为8-strands反平行β-片层(β-sheet II)和反平行五螺旋束(helical bundle II), helical bundle II中的3个主要α-螺旋平行于β-sheet II长轴，形成了整个gH/gL分子的中心和最宽的区域. gH/gL于结构域I/II区域形成了一个明显的凹槽区域. 结构域III主要由α-螺旋结构域构成，共包含9个α-螺旋，其中起始的5个螺旋延结构域II侧向排列形成四层螺旋-环-螺旋的结构. 结构域IV形成一个β-三明治区域，具有两个反向平行的β-片层(β-sheet IIIA和IIIB).

在结构域I和结构域I/II交界面的突变会影响gH/gL的融合活性[92,93]. L65A和L69A突变能够降低B细胞和上皮细胞的膜融合，而L55A和L74A突变则增强了融合活性[94]. L65和L69都是位于连接结构域I和II的螺旋的N端, 埋在gL的疏水界面下, 其突变可能破坏了gL的结合及结构域I的正确折叠. L55位于结构域I/II交界面而L74位于连接结构域I和II的螺旋的结构域II起始部位，55和74位残基的突变可能改变了结构域I和II域间的排列. 而gL的54和94位残基对于gB的激活和膜融合非常重要, EBV同源病毒rhLCV的gL与EBV gL高度相似(82%同源)，但rhLCV gL不能激活EBV gB. 当rhLCV gL中引入EBV gL序列双突变K54Q/Q94K后, 突变后的rhLCV gL能够激活gB介导膜融合[90]. 此外, G594A突变完全阻断了B细胞及上皮细胞融合，而E595A突变降低了上皮细胞融合活性，但大大增强了B细胞融合活性，进一步提示gH结构域IV对于调控膜融合的重要性[95].

gp42的丰度决定了EBV的感染嗜性. B细胞生产的EBV具有较低的gp42丰度，因为在B细胞在gp42能够与MHC-II结合而被降解，该类病毒更利于感染上皮细胞(不需要gp42参与). 而上皮细胞生产的EBV表面gp42密度较高，利于感染B细胞，gH/gL/gp42复合物是感染B细胞所必需的. gp42是一种II型膜蛋白，由*BZLF2*编码，由一个结合gH/gL的柔性N端区域和一个结合HLA II分子的C端凝集素样结构域组成[96]. gp42的结构已得到解析，且gp42与gH/gL之间的相互作用细节已经被详细描述[18,97]. gp42 N端结构域中的柔性残基(aa 33~85)通过环绕gH结构域II, III和IV, 将受体结合域(C端)与gH/gL相连(图5B)[18]. gp42与gH/gL之间高亲和力的相互作用对EBV感染B细胞至关重要，gp42 N端突变削弱了这种相互作用，导致融合能力降低[98]. 相较而言，gp42对于EBV感染上皮细胞来说不是必需的，gp42蛋白或gp42衍生肽会抑制上皮细胞膜融合[99].

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

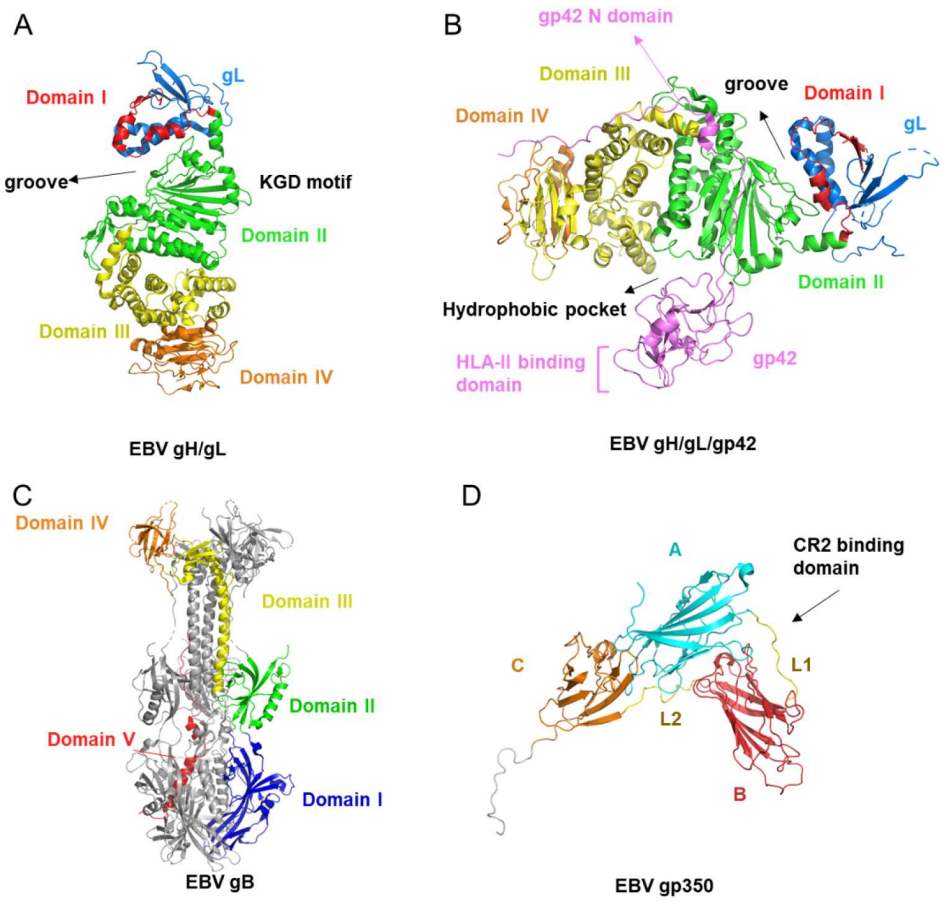

图 5　EBV包膜糖蛋白gH/gL, gH/gL/gp42, gB及gp350 N端结构域的空间结构. A: EBV gH/gL结构(PDB ID: 3PHF); B: EBV gH/gL/gp42结构(PDB ID: 5T1D); C: EBV gB结构(PDB ID: 3FVC); D: EBV gp350 N端结构域(aa 1~425)结构(PDB ID: 2H6O)

Figure 5　Structures of envelope glycoproteins of gH/gL, gH/gL/gp42, gB and gp350 encoded by EBV. A: Structure of EBV gH/gL (PDB ID: 3PHF); B: structure of EBV gH/gL/gp42 (PDB ID: 5T1D); C: structure of EBV gB (PDB ID: 3FVC); D: structure (aa 1~425) of EBV gp350 (PDB ID: 2H6O)

4.2　融合蛋白gB

病毒和宿主细胞的膜融合过程虽然在热力学上是有利的，但需要克服一个较大的动力学障碍. gB作为融合原，是降低这一障碍的“催化”成分[100,101]. 当病毒与细胞膜之间的距离小于20 Å时, 水合力急剧增大, 融合过程能够发生[102]. 当gB被gH/gL或gH/gL/gp42复合物激活后，其由融合前构象变构为中间态，将融合环(fusion loops, FLs)插入宿主细胞膜或内体膜中. 中间态构象不稳定, 进一步向病毒膜方向折叠, 进而扭曲膜形成半融合构象. 最后, gB驱动融合孔的形成, 将衣壳释放入细胞质，gB最终折叠形成稳定的融合后构象, 完成膜融合过程.

EBV gB属于III类融合蛋白, 以三聚体形式存在于病毒囊膜表面, 其胞外域由5个结构域构成, EBV gB的N端和C端相距约10 nm，C端与FLs位于分子的同一末端[103]. gB作为融合蛋白具有不稳定的融合前构象及稳定的融合后构象, 然而目前仅有HSV, VZV及HCMV的gB的融合前构象得到了解析[104~106].

在稳定的EBV gB融合后构象中，结构域I位于分子底部，该结构域中包含了FLs，其核心区域折叠为pleckstrin同源(plekstrin-homology，PH)结构(图5C)[103]. EBV gB的融合环是GWYA$^{111\text{-}114}$和GWLIWTY$^{192\text{-}198}$, 任何残基的突变都会破坏EBV gB介导融合的功能[103,107]. 用HSV-1 gB的HR$^{177\text{-}178}$和RVEA$^{258\text{-}261}$替换EBV gB的WY$^{112\text{-}113}$和WLIW$^{193\text{-}196}$能够避免EBV gB聚集，融合环更为疏水的特性使得gB胞外域呈现玫瑰花结构[103,108]. 结构域II由包含一个furin切割位点的两个不连续序列组成，其核心区域具有PH结构，可能为受

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

体的结合位点. 于结构域II的88, 263, 353和361位的插入linker不影响gB在细胞表面表达, 但突变蛋白失去了介导融合的能力[109]. 结构域III最显著的特征是42个残基形成的长αC螺旋, 它以左旋的方式缠绕着其他2个亚基的αC螺旋形成一个长的螺旋, 这个中央螺旋参与形成位于gB三聚体中心的螺旋卷曲结构(图5C). 与HSV gB相比, EBV gB结构域VI更加无序, 柔性的结构域IV由β-片层构成, 位于融合后构象gB的顶部, 形成一个冠状结构(图5C). 结构域V是从顶部延伸底部, 由一个延伸区域和C端两个α-螺旋构成(αE和αF)(图5C).

除胞外域外, 胞内域对gB的融合功能也很重要. EBV gB有一条104个氨基酸组成胞内域, 其中802~816 aa是融合所必需的, 而邻近区域(aa 817~841)对膜融合有负面影响[110]. EBV gB截短突变体gB816和gB834表现出超高融合活性, 而gB801截短体融合能力较低[111,112].

目前尚未能鉴定gH/gL或gH/gL/gp42复合物与gB作用的位点及gB具体的变构过程, 研究糖蛋白之间的相互作用仍然是一个艰巨的挑战, 因为这种相互作用可能是短暂的和低亲和力的.

4.3 gp350

gp350是EBV表面丰度最高的糖蛋白, 在EBV感染B细胞时, 与其受体CR2或CR1结合而拉近病毒与细胞的距离[15~17]. gp350是一种I型跨膜蛋白, 由907个氨基酸组成, 目前仅有gp350 N端的结构得到解析. gp350 N端(4~443 aa)折叠为三个独立的结构域: A(4~153 aa), B(165~305 aa)和C(317~426 aa)(图5D). 这三个结构域形成了“L”型(回旋镖状)的结构, 这三个结构域包含一个核心反平行β-片层结构, 其中结构域A位于中间形成地基, 结构域B和C位于两侧[113].

gp350具有丰富的糖基化位点, N端14个糖基化几乎覆盖了整个蛋白表面, 形成一个屏蔽层, 其中“L”型的一端有一个无糖链覆盖区域, 该区域具有丰富的带负电残基[113]. 而gp350受体CR2的SCR1-SCR2结构域带有丰富的正电荷, 在某种程度上与gp350上无糖区域的负电荷表面相补充, 形成一个蛋白质-蛋白质相互作用界面[16,113].

gp350通过三段多肽结合CR2: pep1(16~29 aa), pep2(142~161 aa)和pep3(282~301 aa). 这三段区域在无糖链覆盖区域形成环, 这些环表现为稳定的结构, 可能通过两个二硫键(Cys141-Cys8和Cys165-Cys298)将三段肽的末端交联到gp350核心结构上[113]. 此外, 使用N-糖基苷酶F(PNGase-F)对纯化的gp350片段进行了脱糖基化处理后, 去糖基化的gp350仍然具有结合CR2的能力[113]. 此外, 在对无糖链覆盖区进行突变时, 发现三种突变体, Mut1(P158A/Y159A/I160A), Mut2 (W162A/D163A/N164A)和Mut3(D208R/E210R)均不能与CR2结合[113].

5 间层蛋白、核衣壳蛋白、包膜蛋白的相互作用网络

间层蛋白连接包膜及核衣壳, 形成了一个复杂的蛋白质相互作用网络, 这些相互作用在EBV整个生活周期中发挥了重要功能[85,114~116].

间层蛋白BSRF1/BBRF2的复合物在EBV的生命周期中很重要, BSRF1除了与BBRF2结合, 还与许多病毒蛋白相互作用, 包括gB, gH, gN, BLRF2和BGLF3.5[42,85,117]. 而BBRF2还可与BGLF2, BLRF2, BPLF1和BcLF1(MCP)相互作用[42,118].

BALF1是抗凋亡宿主蛋白BCL2的同源物, 它与多个包膜蛋白(gH, gP350, gB, BDLF3和gN)、间层蛋白(BLRF2, BNRF1, BALF2, BSRF1和BORF2)和核衣壳蛋白(BBRF1)相互作用[85,114,115,117].

BGLF3.5是HSV UL14的同源物, 与HSV UL14与UL51相互作用类似, 它与BSRF1相互作用[85,117]. 此外, BGLF3.5还与portal蛋白BLRF2和BBRF1相互作用[85].

间层蛋白BGLF2与BBLF1和BKRF4相互作用[51,68]. 在单独表达时, BGLF2定位于细胞核及细胞质, 与BBLF1共表达则将BGLF2招募至反面高尔基体网状结构, 而加入BKRF4后BGLF2重新定位至细胞核和核周区域[51,68]. 此外, BGLF2在初次包被前, 可能与核衣壳组装相关[119].

BNRF1与间层蛋白BKRF4, BBLF1, BLRF2以及可能与BFRF3(SCP)相互作用[85,114,115]. BNRF1基因敲除对B细胞中病毒核衣壳核转运的抑制也提示其与核衣壳相互作用[120].

BDLF2是II型膜蛋白, 具有跨膜结构域, 与包膜蛋白BMRF2形成复合体[121,122]. 此外, 它还与BSRF1和BRLF1相互作用[85].

BALF2和BMRF1是病毒裂解期基因组DNA合成

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

所必需的, 并可能通过与其他间层蛋白相互作用被包裹于病毒颗粒中(BALF2与BALF1, BLRF2, BNRF1和BGLF3.5; BMRF1与BKRF4和BLRF2)[85].

BRLF1与BDLF2, BXLF1以及衣壳成分BORF1相互作用[85,114,123]. BXLF1与BKRF4, BGLF4, BLRF2, BRLF1以及衣壳蛋白BBRF1相互作用[85]. 此外, BORF2和BRRF2分别与BALF1和gN相互作用[85,114].

6 讨论

目前, 许多EBV核衣壳蛋白、间层蛋白及包膜糖蛋白的结构已经得到解析, 然而, 在蛋白相互作用网络、宿主细胞受体及病毒蛋白的功能方面还存在许多未知, 需要更深入的研究.

EBV和其他疱疹病毒衣壳的原子结构表明, 核衣壳表面五聚体的密度强度不如六聚体, 其主要的原因在于五聚体MCP中N-lasso结构域存在较大柔性, 从而导致它们失去“捆绑”周围六聚体的能力[31,32,124~126]. EBV核衣壳的弹性能够降低portal cap的压力, 从而防止病毒基因组错误地从衣壳内释放. EBV核衣壳在组装过程中, 通过利用portal自身的结构变化、五聚体顶点的结构柔性与CATC对病毒核衣壳内部压力的调节作用三个方面, 保证了其在感染过程中的不同微环境下病毒基因组的包装、转运以及释放这几个重要使命的正确完成. 研究发现, EBV采用一种新的“压力调节”机制以完成病毒基因组包装、稳定及释放的精准调控.

深入解析核衣壳结构、组装及成熟过程有利于研发靶向EBV核衣壳组装、基因组包装的小分子抑制剂. 目前, 已有多个靶向HCMV和HSV基因组包装的小分子化合物被报道[127~129]. Letermovir(Prevymis™)是一种已获批的针对HCMV感染的新药, Letermovir特异性靶向HCMV终止酶复合物, 从而干扰HCMV基因组包裹, 抑制HCMV复制[130]. 此外, 针对KSHV衣壳蛋白SCP与MCP的相互作用模式筛选出一种可有效降低KSHV天然病毒复制活性的SCP类似物, 为抗KSHV病毒感染的药物设计奠定了重要基础[125]. 然而, 由于缺乏EBV核衣壳的成熟过程, 尤其是核衣壳portal顶点的分子细节, 目前还无法从结构水平上为阻断EBV感染的药物设计提供指导.

疱疹病毒科的间层蛋白具有一些保守的特性和功能, 但目前对于EBV间层蛋白的结构和功能研究较少. 此外, 对于EBV突变毒株的表型研究大多在HEK293细胞中进行, 这不利于进行EBV完整生活周期的评估, 如BSRF1敲除的病毒在HEK293细胞中的表型与野生型病毒相似, 但敲除BSRF1基因可减少B95-8细胞中子代病毒的产生[117]. EBV间层蛋白的结构揭示了其重要的功能, 这些结构也提供了蛋白质-蛋白质相互作用、病毒-宿主相互作用和酶活性的详细信息, 为病毒复制、免疫逃逸和发病机制的研究奠定基础, 并进一步指导抗病毒药物的研发.

EBV感染是一个复杂的过程, 涉及多种病毒糖蛋白和宿主细胞受体, 参与感染过程的病毒蛋白是预防性EBV疫苗的理想靶标. 而将多种病毒糖蛋白的组合作为疫苗抗原是最有潜力的, 目前一种EBV mRNA疫苗(mRNA-1189), 含有编码gH, gL, gp42和gp220的四种mRNA(NCT05164094)正在进行I期临床试验.

目前EBV gB融合前构象尚未得到解析, 对于以融合蛋白为免疫原的疫苗, 根据MERS, HIV和RSV的疫苗开发经验证明, 融合前构象一般具有更强的免疫原性及介导中和抗体产生的能力[131~133]. 目前, 常见的稳定融合蛋白融合前构象的突变策略包括引入二硫键(HIV-1 Env(SOSIP)和RSV F(DS-Cavl))[132,134]、引入盐桥(HIV-1 Env)[135]、引入疏水残基(增加RSV pre-F的稳定性)[134,136]和引入脯氨酸(稳定MERS和SARS-CoV-2 S蛋白融合前构象)[133,137]. 除引入突变外, RSV F通过与中和抗体(5C4, D25和AM22)共表达实现融合前结构的稳定[138]. 最近, HCMV和HSV-1 gB的融合前构象已被解析[104,105]. Grunewald团队[104]为稳定HSV-1 gB融合前构象, 将结构域III的H516残基突变为脯氨酸. Yang团队[105]将HCMV gB全长的融合前构象通过SM5-1(靶向gB的中和抗体)、WAY-174865(HCMV融合抑制剂)和双(磺基琥珀酰亚胺)戊二酸交联稳定. 根据HCMV gB全长的融合前构象设计了折叠为融合前构象的HCMV gB胞外域蛋白(gB-C7), 并以gB-C7为免疫原免疫了小鼠, 然而, 与融合后构象gB相比, 并未介导产生更强的免疫应答[139].

综上所述, 结构生物学研究的不断深入, 将为有效的EBV预防性疫苗及小分子抑制剂等抗病毒手段的研发奠定更为坚实的基础.

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

参考文献

1 Epstein M A, Achong B G, Barr Y M. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. Lancet, 1964, 283: 702–703

2 Baer R, Bankier A T, Biggin M D, et al. DNA sequence and expression of the B95-8 Epstein-Barr virus genome. Nature, 1984, 310: 207–211

3 Straus S E, Cohen J I, Tosato G, et al. Epstein-Barr virus infections: biology, pathogenesis, and management. Ann Intern Med, 1993, 118: 45–58

4 Cohen J I, Fauci A S, Varmus H, et al. Epstein-Barr virus: an important vaccine target for cancer prevention. Sci Transl Med, 2011, 3: 107fs7

5 Green M, Michaels M G. Epstein-Barr virus infection and posttransplant lymphoproliferative disorder. Am J Transplant, 2013, 13: 41–54

6 Deeken J F, Tjen-A-Looi A, Rudek M A, et al. The rising challenge of non-AIDS-defining cancers in HIV-infected patients. Clin Infect Dis, 2012, 55: 1228–1235

7 Cohen J I, Mocarski E S, Raab-Traub N, et al. The need and challenges for development of an Epstein-Barr virus vaccine. Vaccine, 2013, 31: B194–B196

8 Sheik-Ali S. Infectious mononucleosis and multiple sclerosis—updated review on associated risk. Mult Scler Relat Disord, 2017, 14: 56–59

9 Cohen J I. Epstein-Barr virus infection. N Engl J Med, 2000, 343: 481–492

10 Kenney S C. Reactivation and lytic replication of EBV. In: Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, et al., eds. Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis. Cambridge: Cambridge University Press, 2007

11 Sathiyamoorthy K, Jiang J, Hu Y X, et al. Assembly and architecture of the EBV B cell entry triggering complex. PLoS Pathog, 2014, 10: e1004309

12 Miller N, Hutt-Fletcher L M. Epstein-Barr virus enters B cells and epithelial cells by different routes. J Virol, 1992, 66: 3409–3414

13 Nemerow G R, Cooper N R. Early events in the infection of human B lymphocytes by Epstein-Barr virus: the internalization process. Virology, 1984, 132: 186–198

14 Eisenberg R J, Atanasiu D, Cairns T M, et al. Herpes virus fusion and entry: a story with many characters. Viruses, 2012, 4: 800–832

15 Ogembo J G, Kannan L, Ghiran I, et al. Human complement receptor type 1/CD35 is an Epstein-Barr virus receptor. Cell Rep, 2013, 3: 371–385

16 Young K A, Chen X S, Holers V M, et al. Isolating the Epstein-Barr virus gp350/220 binding site on complement receptor type 2 (CR2/CD21). J Biol Chem, 2007, 282: 36614–36625

17 Young K A, Herbert A P, Barlow P N, et al. Molecular basis of the interaction between complement receptor type 2 (CR2/CD21) and Epstein-Barr virus glycoprotein gp350. J Virol, 2008, 82: 11217–11227

18 Sathiyamoorthy K, Hu Y X, Möhl B S, et al. Structural basis for Epstein-Barr virus host cell tropism mediated by gp42 and gHgL entry glycoproteins. Nat Commun, 2016, 7: 13557

19 Mohl B S, Chen J, Longnecker R. Gammaherpesvirus entry and fusion: a tale how two human pathogenic viruses enter their host cells. Adv Virus Res, 2019, 104: 313–343

20 Möhl B S, Chen J, Sathiyamoorthy K, et al. Structural and mechanistic insights into the tropism of Epstein-Barr virus. Mol Cells, 2016, 39: 286–291

21 Chen J, Sathiyamoorthy K, Zhang X, et al. Ephrin receptor A2 is a functional entry receptor for Epstein-Barr virus. Nat Microbiol, 2018, 3: 172–180

22 Zhang H, Li Y, Wang H B, et al. Ephrin receptor A2 is an epithelial cell receptor for Epstein-Barr virus entry. Nat Microbiol, 2018, 3: 1–8

23 Chesnokova L S, Hutt-Fletcher L M. Fusion of Epstein-Barr virus with epithelial cells can be triggered by αvβ5 in addition to αvβ6 and αvβ8, and integrin binding triggers a conformational change in glycoproteins gHgL. J Virol, 2011, 85: 13214–13223

24 Xiong D, Du Y, Wang H B, et al. Nonmuscle myosin heavy chain IIA mediates Epstein-Barr virus infection of nasopharyngeal epithelial cells. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112: 11036–11041

25 Wang H B, Zhang H, Zhang J P, et al. Neuropilin 1 is an entry factor that promotes EBV infection of nasopharyngeal epithelial cells. Nat Commun, 2015, 6: 6240

26 Wolfstein A, Nagel C, Radtke K, et al. The inner tegument promotes herpes simplex virus capsid motility along microtubules *in vitro*. Traffic, 2006, 7: 227–237

27 Dohner K, Wolfstein A, Prank U, et al. Function of dynein and dynactin in herpes simplex virus capsid transport. Mol Biol Cell, 2002, 13: 2795–2809

28 Mettenleiter T C. Budding events in herpesvirus morphogenesis. Virus Res, 2004, 106: 167–180

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

29 Trus B L, Newcomb W W, Booy F P, et al. Distinct monoclonal antibodies separately label the hexons or the pentons of herpes simplex virus capsid. Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89: 11508–11512

30 Newcomb W W, Trus B L, Booy F P, et al. Structure of the herpes simplex virus capsid molecular composition of the pentons and the triplexes. J Mol Biol, 1993, 232: 499–511

31 Dai X, Zhou Z H. Structure of the herpes simplex virus 1 capsid with associated tegument protein complexes. Science, 2018, 360: eaao7298

32 Wang J, Yuan S, Zhu D, et al. Structure of the herpes simplex virus type 2 C-capsid with capsid-vertex-specific component. Nat Commun, 2018, 9: 3668

33 Newcomb W W, Homa F L, Thomsen D R, et al. Assembly of the herpes simplex virus capsid: characterization of intermediates observed during cell-free capsid formation. J Mol Biol, 1996, 263: 432–446

34 Trus B L, Booy F P, Newcomb W W, et al. The herpes simplex virus procapsid: structure, conformational changes upon maturation, and roles of the triplex proteins VP19c and VP23 in assembly. J Mol Biol, 1996, 263: 447–462

35 Heymann J B, Cheng N, Newcomb W W, et al. Dynamics of herpes simplex virus capsid maturation visualized by time-lapse cryo-electron microscopy. Nat Struct Mol Biol, 2003, 10: 334–341

36 Trus B L, Newcomb W W, Cheng N, et al. Allosteric signaling and a nuclear exit strategy: binding of UL25/UL17 heterodimers to DNA-Filled HSV-1 capsids. Mol Cell, 2007, 26: 479–489

37 Li Z, Zhang X, Dong L, et al. CryoEM structure of the tegumented capsid of Epstein-Barr virus. Cell Res, 2020, 30: 873–884

38 Gong D, Dai X, Jih J, et al. DNA-packing portal and capsid-associated tegument complexes in the tumor herpesvirus KSHV. Cell, 2019, 178: 1329–1343.e12

39 Liu Y T, Jih J, Dai X, et al. Cryo-EM structures of herpes simplex virus type 1 portal vertex and packaged genome. Nature, 2019, 570: 257–261

40 Johannsen E, Luftig M, Chase M R, et al. Proteins of purified Epstein-Barr virus. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101: 16286–16291

41 Guo H, Shen S, Wang L, et al. Role of tegument proteins in herpesvirus assembly and egress. Protein Cell, 2010, 1: 987–998

42 He H P, Luo M, Cao Y L, et al. Structure of Epstein-Barr virus tegument protein complex BBRF2-BSRF1 reveals its potential role in viral envelopment. Nat Commun, 2020, 11: 5405

43 Tsai K, Messick T E, Lieberman P M. Disruption of host antiviral resistances by gammaherpesvirus tegument proteins with homology to the FGARAT purine biosynthesis enzyme. Curr Opin Virol, 2015, 14: 30–40

44 Lieberman P M. Chromatin structure of Epstein-Barr virus latent episomes. In: Münz C, ed. Epstein Barr Virus Volume 1. Current Topics in Microbiology and Immunology. Cham: Springer, 2015. 71–102

45 Schreiner S, Wodrich H. Virion factors that target Daxx to overcome intrinsic immunity. J Virol, 2013, 87: 10412–10422

46 Huang H, Deng Z, Vladimirova O, et al. Structural basis underlying viral hijacking of a histone chaperone complex. Nat Commun, 2016, 7: 12707

47 Abbott R J M, Quinn L L, Leese A M, et al. $CD8^+$ T cell responses to lytic EBV infection: late antigen specificities as subdominant components of the total response. J Immunol, 2013, 191: 5398–5409

48 Adhikary D, Damaschke J, Mautner J, et al. The Epstein-Barr virus major tegument protein BNRF1 is a common target of cytotoxic $CD4^+$ T cells. J Virol, 2020, 94: e00284-20

49 Liu Y, Li Y, Bao H, et al. Epstein-Barr virus tegument protein BKRF4 is a histone chaperone. J Mol Biol, 2022, 434: 167756

50 Ho T H, Sitz J, Shen Q, et al. A screen for Epstein-Barr virus proteins that inhibit the DNA damage response reveals a novel histone binding protein. J Virol, 2018, 92: e00262-18

51 Masud H, Watanabe T, Yoshida M, et al. Epstein-Barr virus BKRF4 gene product is required for efficient progeny production. J Virol, 2017, 91: e00975-17

52 Chen J, Lu Z, Gong W, et al. Epstein-Barr virus protein BKRF4 restricts nucleosome assembly to suppress host antiviral responses. Proc Natl Acad Sci USA, 2022, 119: e2203782119

53 Cheng A Z, Yockteng-Melgar J, Jarvis M C, et al. Epstein-Barr virus BORF2 inhibits cellular APOBEC3B to preserve viral genome integrity. Nat Microbiol, 2019, 4: 78–88

54 Shaban N M, Yan R, Shi K, et al. Cryo-EM structure of the EBV ribonucleotide reductase BORF2 and mechanism of APOBEC3B inhibition. Sci Adv, 2022, 8: eabm2827

55 Yockteng-Melgar J, Shire K, Cheng A Z, et al. G(1)/S cell cycle induction by Epstein-Barr virus BORF2 is mediated by P53 and APOBEC3B. J

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

Virol, 2022, 96: e0066022
56 Whitehurst C B, Li G, Montgomery S A, et al. Knockout of Epstein-Barr virus BPLF1 retards B-cell transformation and lymphoma formation in humanized mice. mBio, 2015, 6: e01574-15
57 Saito S, Murata T, Kanda T, et al. Epstein-Barr virus deubiquitinase downregulates TRAF6-mediated NF-κB signaling during productive replication. J Virol, 2013, 87: 4060–4070
58 Whitehurst C B, Ning S, Bentz G L, et al. The Epstein-Barr virus (EBV) deubiquitinating enzyme BPLF1 reduces EBV ribonucleotide reductase activity. J Virol, 2009, 83: 4345–4353
59 Gastaldello S, Hildebrand S, Faridani O, et al. A deneddylase encoded by Epstein-Barr virus promotes viral DNA replication by regulating the activity of cullin-RING ligases. Nat Cell Biol, 2010, 12: 351–361
60 Chiu Y F, Sugden B, Chang P J, et al. Characterization and intracellular trafficking of Epstein-Barr virus BBLF1, a protein involved in virion maturation. J Virol, 2012, 86: 9647–9655
61 Uddin M K, Watanabe T, Arata M, et al. Epstein-Barr virus BBLF1 mediates secretory vesicle transport to facilitate mature virion release. J Virol, 2023, 97: e0043723
62 Fuchs W, Granzow H, Dauber M, et al. Identification of structural proteins of koi herpesvirus. Arch Virol, 2014, 159: 3257–3268
63 Konishi N, Narita Y, Hijioka F, et al. BGLF2 increases infectivity of Epstein-Barr virus by activating AP-1 upon *de novo* infection. mSphere, 2018, 3: e00138-18
64 Liu X, Cohen J I. Epstein-Barr virus (EBV) tegument protein BGLF2 promotes EBV reactivation through activation of the p38 mitogen-activated protein kinase. J Virol, 2016, 90: 1129–38
65 Chen T, Wang Y, Xu Z, et al. Epstein-Barr virus tegument protein BGLF2 inhibits NF-κB activity by preventing p65 Ser536 phosphorylation. FASEB J, 2019, 33: 10563–10576
66 Jangra S, Bharti A, Lui W Y, et al. Suppression of JAK-STAT signaling by Epstein-Barr virus tegument protein BGLF2 through recruitment of SHP1 phosphatase and promotion of STAT2 degradation. J Virol, 2021, 95: e0102721
67 Liu X, Sadaoka T, Krogmann T, et al. Epstein-Barr virus (EBV) tegument protein BGLF2 suppresses type I interferon signaling to promote EBV reactivation. J Virol, 2020, 94: 1129–1138
68 Hung C H, Chiu Y F, Wang W H, et al. Interaction between BGLF2 and BBLF1 is required for the efficient production of infectious Epstein-Barr virus particles. Front Microbiol, 2019, 10: 3021
69 Asai R, Kato A, Kato K, et al. Epstein-Barr virus protein kinase BGLF4 is a virion tegument protein that dissociates from virions in a phosphorylation-dependent process and phosphorylates the viral immediate-early protein BZLF1. J Virol, 2006, 80: 5125–5134
70 Chen M R, Chang S J, Huang H, et al. A protein kinase activity associated with Epstein-Barr virus BGLF4 phosphorylates the viral early antigen EA-D *in vitro*. J Virol, 2000, 74: 3093–3104
71 Zhu J, Liao G, Shan L, et al. Protein array identification of substrates of the Epstein-Barr virus protein kinase BGLF4. J Virol, 2009, 83: 5219–5231
72 Yue W, Gershburg E, Pagano J S. Hyperphosphorylation of EBNA2 by Epstein-Barr virus protein kinase suppresses transactivation of the LMP1 promoter. J Virol, 2005, 79: 5880–5885
73 Kato K, Kawaguchi Y, Tanaka M, et al. Epstein-Barr virus-encoded protein kinase BGLF4 mediates hyperphosphorylation of cellular elongation factor 1δ (EF-1δ): EF-1δ is universally modified by conserved protein kinases of herpesviruses in mammalian cells. J Gen Virol, 2001, 82: 1457–1463
74 Iwahori S, Murata T, Kudoh A, et al. Phosphorylation of p27Kip1 by Epstein-Barr virus protein kinase induces its degradation through SCFSkp2 ubiquitin ligase actions during viral lytic replication. J Biol Chem, 2009, 284: 18923–18931
75 Li R, Zhu J, Xie Z, et al. Conserved herpesvirus kinases target the DNA damage response pathway and TIP60 histone acetyltransferase to promote virus replication. Cell Host Microbe, 2011, 10: 390–400
76 Zhang K, Lv D W, Li R. Conserved herpesvirus protein kinases target SAMHD1 to facilitate virus replication. Cell Rep, 2019, 28: 449–459.e5
77 Lee C P, Huang Y H, Lin S F, et al. Epstein-Barr virus BGLF4 kinase induces disassembly of the nuclear lamina to facilitate virion production. J Virol, 2008, 82: 11913–11926
78 Chen P W, Lin S J, Tsai S C, et al. Regulation of microtubule dynamics through phosphorylation on stathmin by Epstein-Barr virus kinase BGLF4. J Biol Chem, 2010, 285: 10053–10063

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

79 Wang J T, Doong S L, Teng S C, et al. Epstein-Barr virus BGLF4 kinase suppresses the interferon regulatory factor 3 signaling pathway. J Virol, 2009, 83: 1856–1869

80 Chang Y H, Lee C P, Su M T, et al. Epstein-Barr virus BGLF4 kinase retards cellular S-phase progression and induces chromosomal abnormality. PLoS One, 2012, 7: e39217

81 Kudoh A, Daikoku T, Ishimi Y, et al. Phosphorylation of MCM4 at sites inactivating DNA helicase activity of the MCM4-MCM6-MCM7 complex during Epstein-Barr virus productive replication. J Virol, 2006, 80: 10064–10072

82 El-Guindy A, Lopez-Giraldez F, Delecluse H J, et al. A locus encompassing the Epstein-Barr virus bglf4 kinase regulates expression of genes encoding viral structural proteins. PLoS Pathog, 2014, 10: e1004307

83 Feederle R, Mehl-Lautscham A M, Bannert H, et al. The Epstein-Barr virus protein kinase BGLF4 and the exonuclease BGLF5 have opposite effects on the regulation of viral protein production. J Virol, 2009, 83: 10877–10891

84 Gershburg E, Raffa S, Torrisi M R, et al. Epstein-Barr virus-encoded protein kinase (BGLF4) is involved in production of infectious virus. J Virol, 2007, 81: 5407–5412

85 Hara Y, Watanabe T, Yoshida M, et al. Comprehensive analyses of intraviral Epstein-Barr virus protein-protein interactions hint central role of BLRF2 in the tegument network. J Virol, 2022, 96: e00518-22

86 Masud H M A A, Watanabe T, Sato Y, et al. The BOLF1 gene is necessary for effective Epstein-Barr viral infectivity. Virology, 2019, 531: 114–125

87 Hutchinson L, Browne H, Wargent V, et al. A novel herpes simplex virus glycoprotein, gL, forms a complex with glycoprotein H (gH) and affects normal folding and surface expression of gH. J Virol, 1992, 66: 2240–2250

88 Chowdary T K, Cairns T M, Atanasiu D, et al. Crystal structure of the conserved herpesvirus fusion regulator complex gH-gL. Nat Struct Mol Biol, 2010, 17: 882–888

89 Xing Y, Oliver S L, Nguyen T V, et al. A site of varicella-zoster virus vulnerability identified by structural studies of neutralizing antibodies bound to the glycoprotein complex gHgL. Proc Natl Acad Sci USA, 2015, 112: 6056–6061

90 Matsuura H, Kirschner A N, Longnecker R, et al. Crystal structure of the Epstein-Barr virus (EBV) glycoprotein H/glycoprotein L (gH/gL) complex. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107: 22641–22646

91 Su C, Wu L, Chai Y, et al. Molecular basis of EphA2 recognition by gHgL from gammaherpesviruses. Nat Commun, 2020, 11: 5964

92 Plate A E, Smajlović J, Jardetzky T S, et al. Functional analysis of glycoprotein L (gL) from rhesus lymphocryptovirus in Epstein-Barr virus-mediated cell fusion indicates a direct role of gL in gB-induced membrane fusion. J Virol, 2009, 83: 7678–7689

93 Backovic M, DuBois R M, Cockburn J J, et al. Structure of a core fragment of glycoprotein H from pseudorabies virus in complex with antibody. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107: 22635–22640

94 Omerović J, Lev L, Longnecker R. The amino terminus of Epstein-Barr virus glycoprotein gH is important for fusion with epithelial and B cells. J Virol, 2005, 79: 12408–12415

95 Wu L, Hutt-Fletcher L M. Point mutations in EBV gH that abrogate or differentially affect B cell and epithelial cell fusion. Virology, 2007, 363: 148–155

96 Li Q, Turk S M, Hutt-Fletcher L M. The Epstein-Barr virus (EBV) BZLF2 gene product associates with the gH and gL homologs of EBV and carries an epitope critical to infection of B cells but not of epithelial cells. J Virol, 1995, 69: 3987–3994

97 Kirschner A N, Sorem J, Longnecker R, et al. Structure of Epstein-Barr virus glycoprotein 42 suggests a mechanism for triggering receptor-activated virus entry. Structure, 2009, 17: 223–233

98 Liu F, Marquardt G, Kirschner A N, et al. Mapping the N-terminal residues of Epstein-Barr virus gp42 that bind gH/gL by using fluorescence polarization and cell-based fusion assays. J Virol, 2010, 84: 10375–10385

99 Wang X, Kenyon W J, Li Q, et al. Epstein-Barr virus uses different complexes of glycoproteins gH and gL To infect B lymphocytes and epithelial cells. J Virol, 1998, 72: 5552–5558

100 Harrison S C. Viral membrane fusion. Virology, 2015, 479-480: 498–507

101 Chernomordik L V, Kozlov M M. Protein-lipid interplay in fusion and fission of biological membranes. Annu Rev Biochem, 2003, 72: 175–207

102 Rand R P, Parsegian V A. Physical force considerations in model and biological membranes. Can J Biochem Cell Biol, 1984, 62: 752–759

103 Backovic M, Longnecker R, Jardetzky T S. Structure of a trimeric variant of the Epstein-Barr virus glycoprotein B. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106: 2880–2885

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

104 Vollmer B, Pražák V, Vasishtan D, et al. The prefusion structure of herpes simplex virus glycoprotein B. Sci Adv, 2020, 6: eabc1726
105 Liu Y, Heim K P, Che Y, et al. Prefusion structure of human cytomegalovirus glycoprotein B and structural basis for membrane fusion. Sci Adv, 2021, 7: eabf3178
106 Zhou M, Vollmer B, Machala E, et al. Targeted mutagenesis of the herpesvirus fusogen central helix captures transition states. Nat Commun, 2023, 14: 7958
107 Backovic M, Jardetzky T S, Longnecker R. Hydrophobic residues that form putative fusion loops of Epstein-Barr virus glycoprotein B are critical for fusion activity. J Virol, 2007, 81: 9596–9600
108 Backovic M, Leser G P, Lamb R A, et al. Characterization of EBV gB indicates properties of both class I and class II viral fusion proteins. Virology, 2007, 368: 102–113
109 Reimer J J, Backovic M, Deshpande C G, et al. Analysis of Epstein-Barr virus glycoprotein B functional domains via linker insertion mutagenesis. J Virol, 2009, 83: 734–747
110 Haan K M, Kyeong Lee S, Longnecker R. Different functional domains in the cytoplasmic tail of glycoprotein B are involved in Epstein-Barr virus-induced membrane fusion. Virology, 2001, 290: 106–114
111 Garcia N J, Chen J, Longnecker R. Modulation of Epstein-Barr virus glycoprotein B (gB) fusion activity by the gB cytoplasmic tail domain. mBio, 2013, 4: e00571-12
112 Chen J, Zhang X, Jardetzky T S, et al. The Epstein-Barr virus (EBV) glycoprotein B cytoplasmic C-terminal tail domain regulates the energy requirement for EBV-induced membrane fusion. J Virol, 2014, 88: 11686–11695
113 Szakonyi G, Klein M G, Hannan J P, et al. Structure of the Epstein-Barr virus major envelope glycoprotein. Nat Struct Mol Biol, 2006, 13: 996–1001
114 Calderwood M A, Venkatesan K, Xing L, et al. Epstein-Barr virus and virus human protein interaction maps. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104: 7606–7611
115 Fossum E, Friedel C C, Rajagopala S V, et al. Evolutionarily conserved herpesviral protein interaction networks. PLoS Pathog, 2009, 5: e1000570
116 Sathish N, Wang X, Yuan Y. Tegument proteins of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus and related gamma-herpesviruses. Front Microbio, 2012, 3: 98
117 Yanagi Y, Masud H M A A, Watanabe T, et al. Initial characterization of the Epstein-Barr virus BSRF1 gene product. Viruses, 2019, 11: 285
118 Masud H M A A, Yanagi Y, Watanabe T, et al. Epstein-Barr virus BBRF2 is required for maximum infectivity. Microorganisms, 2019, 7: 705
119 Shen S, Jia X, Guo H, et al. Gammaherpesvirus tegument protein ORF33 is associated with intranuclear capsids at an early stage of the tegumentation process. J Virol, 2015, 89: 5288–5297
120 Feederle R, Neuhierl B, Baldwin G, et al. Epstein-Barr virus BNRF1 protein allows efficient transfer from the endosomal compartment to the nucleus of primary B lymphocytes. J Virol, 2006, 80: 9435–9443
121 Gore M, Hutt-Fletcher L M. The BDLF2 protein of Epstein-Barr virus is a type II glycosylated envelope protein whose processing is dependent on coexpression with the BMRF2 protein. Virology, 2009, 383: 162–167
122 Loesing J B, Di Fiore S, Ritter K, et al. Epstein-Barr virus BDLF2-BMRF2 complex affects cellular morphology. J Gen Virol, 2009, 90: 1440–1449
123 Huang H H, Wang W H, Feng T H, et al. Rta is an Epstein-Barr virus tegument protein that improves the stability of capsid protein BORF1. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 523: 773–779
124 Yu X, Jih J, Jiang J, et al. Atomic structure of the human cytomegalovirus capsid with its securing tegument layer of pp150. Science, 2017, 356: eaam6892
125 Dai X, Gong D, Lim H, et al. Structure and mutagenesis reveal essential capsid protein interactions for KSHV replication. Nature, 2018, 553: 521–525
126 Yuan S, Wang J, Zhu D, et al. Cryo-EM structure of a herpesvirus capsid at 3.1 Å. Science, 2018, 360: eaao7283
127 van Zeijl M, Fairhurst J, Jones T R, et al. Novel class of thiourea compounds that inhibit herpes simplex virus type 1 DNA cleavage and encapsidation: resistance maps to the UL6 gene. J Virol, 2000, 74: 9054–9061
128 Newcomb W W, Brown J C. Inhibition of herpes simplex virus replication by WAY-150138: assembly of capsids depleted of the portal and terminase proteins involved in DNA encapsidation. J Virol, 2002, 76: 10084–10088

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

129 Bowman L J, Melaragno J I, Brennan D C. Letermovir for the management of cytomegalovirus infection. Expert Opin Investig Drugs, 2017, 26: 235–241

130 Kim E S. Letermovir: first global approval. Drugs, 2018, 78: 147–152

131 Crank M C, Ruckwardt T J, Chen M, et al. A proof of concept for structure-based vaccine design targeting RSV in humans. Science, 2019, 365: 505–509

132 Sanders R W, Derking R, Cupo A, et al. A next-generation cleaved, soluble HIV-1 Env trimer, BG505 SOSIP.664 gp140, expresses multiple epitopes for broadly neutralizing but not non-neutralizing antibodies. PLoS Pathog, 2013, 9: e1003618

133 Pallesen J, Wang N, Corbett K S, et al. Immunogenicity and structures of a rationally designed prefusion MERS-CoV spike antigen. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, 114: E7348–E7357

134 McLellan J S, Chen M, Joyce M G, et al. Structure-based design of a fusion glycoprotein vaccine for respiratory syncytial virus. Science, 2013, 342: 592–598

135 Rutten L, Lai Y T, Blokland S, et al. A universal approach to optimize the folding and stability of prefusion-closed HIV-1 envelope trimers. Cell Rep, 2018, 23: 584–595

136 Krarup A, Truan D, Furmanova-Hollenstein P, et al. A highly stable prefusion RSV F vaccine derived from structural analysis of the fusion mechanism. Nat Commun, 2015, 6: 8143

137 Wrapp D, Wang N, Corbett K S, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. Science, 2020, 367: 1260–1263

138 McLellan J S, Chen M, Leung S, et al. Structure of RSV fusion glycoprotein trimer bound to a prefusion-specific neutralizing antibody. Science, 2013, 340: 1113–1117

139 Sponholtz M R, Byrne P O, Lee A G, et al. Structure-based design of a soluble human cytomegalovirus glycoprotein B antigen stabilized in a prefusion-like conformation. Proc Natl Acad Sci USA, 2024, 121: e2404250121

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182

Research progress on the structure of Epstein-Barr virus

ZHONG Ling[1,2], WANG YuFei[1,2], YANG ChengYu[3], HUANG Yang[3], HE HuiPing[4], ZHENG QingBing[3] & ZHANG Xiao[1]

1 College of Pharmacy, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;
2 State Key Laboratory of Oncology in South China, Guangdong Key Laboratory of Nasopharyngeal Carcinoma Diagnosis and Therapy, Guangdong Provincial Clinical Research Center for Cancer, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China;
3 State Key Laboratory of Vaccines for Infectious Diseases, National Institute of Diagnostics and Vaccine Development in Infectious Diseases, Xiamen University, Xiamen 361005, China;
4 Guangzhou Women and Children's Medical Center, Guangzhou 510623, China

Epstein-Barr virus (EBV), a human γ herpes virus, is a widely spread worldwide. EBV infection is closely related to the occurrence and development of infectious mononucleosis, various tumors, autoimmune diseases and Long COVID. EBV causes a serious disease burden, but there is currently no effective vaccines or specific antiviral drugs on the market. EBV belongs to the double stranded DNA virus and has a typical three-layer structure of envelope interlayer nucleocapsid of herpes virus. In recent years, with the advancement of structural biology technology, the spatial structures of EBV envelope glycoproteins, interlayer proteins, and nucleocapsid proteins have been elucidated, and the interaction networks between proteins and the interactions between capsid protein subunits have also been demonstrated. This will provide guidance for the rational design of EBV vaccines, antibodies, and small molecule inhibitors. In addition, structural analysis of EBV-encoded proteins will aid to understand the interaction between the virus and the host, and further explore the function of viral proteins. This review article summarizes the structure of EBV, virus assembly and release processes, the structures and functions of EBV envelope glycoproteins, interlayer proteins, and nucleocapsid proteins that have been reported so far, as well as the interaction networks between these three types of proteins. These findings will pave the way for the rational design of vaccines and therapeutics on the basis of EBV structures against EBV infection and associated diseases.

Epstein-Barr virus, **envelope glycoprotein**, **interlayer proteins**, **nucleocapsid protein**, **antivirus strategy**

doi: 10.1360/SSV-2024-0182

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2024-0182