

HIV-1 转录延伸调控潜伏感染的分子机制

胡淑婧, 邓 凯

(中山大学中山医学院, 广州 510080)



邓凯, 本科及硕士毕业于中山大学, 博士毕业于美国约翰霍普金斯大学。曾在霍华德休斯医学研究所从事博士后研究。现任中山大学中山医学院教授、副院长, 热带病防治研究教育部重点实验室主任, 入选国家重大人才工程青年项目。研究聚焦病毒持续性感染的机制及宿主抗病毒免疫调控的规律。以通信作者或第一作者在 *Nature*、*Immunity*、*Cell Host & Microbe*、*Cell Metabolism*、*eLife* 等权威期刊发表论文 20 余篇。主持国家重点研发计划课题、国家自然科学基金项目、广东省科技计划项目、广东省杰出青年科学基金项目等科研项目。兼任中国免疫学会感染免疫分会常委、中国微生物学会病毒学专业委员会委员、广东省免疫学会副理事长等。

摘要 人类免疫缺陷病毒 1 型(HIV-1)作为获得性免疫缺陷综合征(AIDS)的主要致病病原体, 目前尚无有效治愈方法。现有的抗逆转录病毒疗法(ART)虽然可以有效抑制病毒复制, 但却无法清除潜伏感染的细胞。因此, 当前面临的主要挑战是找到安全、有效的方法清除 HIV-1 潜伏储存库。HIV-1 潜伏维持和再激活分子机制的研究已经揭示了 HIV-1 转录延伸过程在其中所起的核心作用。本综述主要概述 HIV-1 转录延伸的具体分子过程以及对潜伏感染的调控作用, 为进一步探究 HIV-1 如何实现潜伏和活跃转录之间的平衡提供理论支持, 为实现 AIDS 治愈提供新方向。

关键词 人类免疫缺陷病毒 1 型; 潜伏感染; 转录延伸; 反式激活蛋白(Tat); 正转录延伸因子 b(P-TEFb)

中图分类号: R512.91 文献标志码: A 文章编号: 1005-930X(2024)10-1331-07

DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.10.002

The molecular mechanism of HIV-1 transcriptional elongation regulating latent infection

HU Shujing, DENG Kai. (Zhongshan School of Medicine Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) is the main causative agent of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), and there is currently no effective cure. Although the existing antiretroviral therapy (ART) can effectively suppress virus replication, it cannot clear the latently infected cells. Therefore, the main challenge in this field is to find safe and effective methods to clear HIV-1 latent reservoirs. The current research on the molecular mechanisms of HIV-1 latency maintenance and reactivation has revealed that the transcriptional elongation process of HIV-1 plays a central role in this process. This review summarizes and provides an overview of the specific molecular processes of HIV-1 transcription elongation and its role in regulating latent infection, providing theoretical support for further exploring how HIV-1 achieves a balance between latent and active transcription, with the aim of providing new directions for achieving AIDS cure.

Keywords HIV-1; latent infection; transcriptional elongation; transactivator (Tat); positive transcription elongation factor b (P-TEFb)

现有的抗逆转录病毒疗法(antiretroviral therapy, ART)可以有效阻断人类免疫缺陷病毒 1 型(human immunodeficiency virus type 1, HIV-1)病毒复制

并恢复感染者的部分免疫功能, 但却无法清除患者体内潜伏感染 HIV-1 的细胞^[1]。对大多数 HIV-1 感染者来说, 即使在感染早期介入 ART 并持续治疗多

[通信作者] 邓凯, E-mail: dengkai@mail.sysu.edu.cn

[收稿日期] 2024-06-25

年,中断后依然会出现病毒载量的反弹^[2]。潜伏感染状态下的 HIV-1 前病毒处于转录沉默状态,既无法被抗病毒药物清除,也无法被宿主免疫系统识别,但是中断 ART 后,潜伏病毒恢复活跃转录,导致病毒载量重新回到治疗之前的水平^[3]。因此,持续存在的 HIV-1 潜伏感染细胞是实现功能性治愈的最大阻碍,找到安全、有效的方法清除 HIV-1 潜伏储存库并达到长期的无药物缓解是该研究领域的主要目标。其中尝试实现 HIV-1 功能性治愈的策略之一是“Shock and Kill”,即通过潜伏逆转剂激活潜伏 HIV-1 前病毒的复制,使其暴露于免疫系统监控之下,从而促进感染细胞清除,但目前尚无有效的临床应用^[4]。长期以来,对 HIV-1 转录分子机制的研究是深入阐明 HIV-1 潜伏和再激活的重要基础^[5]。目前,我们对 HIV-1 转录调控的分子机制的理解主要来自细胞系和原代细胞模型研究。现有研究发现,病毒反式激活蛋白(transactivator, Tat)与宿主细胞正转录延伸因子 b(positive transcription elongation factor b, P-TEFb)所共同介导的转录延伸过程在 HIV-1 病毒维持潜伏和再激活方面起到核心作用^[6]。本文主要概述 HIV-1 转录延伸的具体分子过程以及参与潜伏调控的早期事件,旨在为实现艾滋病的功能性治愈提供理论依据。

1 Tat 和 P-TEFb 共同介导 HIV-1 转录延伸

1.1 HIV-1 Tat HIV-1 Tat 是由 *Tat* 基因编码产生的一种反式激活因子,对于病毒复制是必不可少的。在 Tat 的产生过程中,多外显子转录本的双剪接机制作为转录后修饰发挥重要作用,主要包括剪切 mRNA,去除不必要的序列,然后将核酸序列连接在一起^[7]。所产生的 Tat 含有 86~104 个氨基酸,可变分子量为 14~16 ku;与此同时,有研究表明,Tat 的不完全形式(58~72 氨基酸)也可能具有生物活性^[8]。完全形式的 Tat 可被划分为 6 个不同的区域,并在其整体序列中包含各种保守区域,其中第一个外显子编码的前 72 个氨基酸是 Tat 介导转录(Tat-mediated transcription, TMT)所需的最低模块,这对其功能至关重要^[9]。酸性/富含脯氨酸的基序 I 区(氨基酸 1~20)有一个保守的色氨酸(Trp)-11,而富含半胱氨酸的 II 区在 22、25、27、30、31、34 和 37 位

有 7 个保守的半胱氨酸(22~37),III 区(38~48)作为核心域与 I、II 区域构成最小激活域。IV 区碱性结构域(49~59)是 Tat 与 RNA 结合的关键结构域,在所有变体中高度保守,也包含核定位信号。V 区(60~72)是谷氨酰胺富集区,该区域的序列变异率最高^[9]。

在 CD4⁺ T 细胞或巨噬细胞中,HIV-1 病毒 RNA 逆转录后,产生的前病毒 DNA 必须整合到宿主细胞染色质中才能被 RNA 聚合酶 II(RNA polymerase II, RNAP II)转录,其中将 HIV-1 前病毒转录为 mRNA 是病毒生命周期中的关键步骤^[10]。在 Tat 缺失的情况下,细胞转录因子如 NF- κ B、Sp1 和 TATA-box 结合蛋白可以促进 HIV-1 启动子基础转录的启动。然而,RNAP II 在转录编码被称为 TAR 的 RNA 茎环结构的短转录本后立即停止转录,从而产生不支持病毒复制的较短转录本^[11]。为了克服这一限制,Tat 通过与反式激活元件 TAR 相互作用来显著增加 RNAP II 的合成能力,以产生完整病毒转录本。

另外,由于 Tat 是 HIV-1 多剪切转录本翻译产生的,其本身可以作为强大的反馈回路提供燃料,在最佳条件下激活 HIV-1 基因的高效表达^[12]。当 HIV-1 转录起始受到表观遗传沉默或关键转录激活因子的低活性/水平的限制时,即使 Tat 表达的微小增加,有时也足以将前病毒从潜伏状态驱动到生产性复制。同时,值得注意的是,由于 Tat 能够通过其富含精氨酸的转导基序穿过脂质膜,从生产性感染细胞分泌的 Tat 可以靶向邻近细胞以刺激 HIV-1 复制和潜伏期再激活^[13]。总而言之,基于 Tat 正反馈的高灵敏度和信号放大特性,使其成为决定 HIV-1 复制“开”和“关”状态的重要分子开关。

1.2 P-TEFb HIV-1 转录研究领域的一个里程碑是在 20 世纪 90 年代后期发现了 P-TEFb 是 TMT 中必要的辅助因子^[14]。P-TEFb 由细胞周期蛋白依赖性激酶 9(cyclin-dependent kinase 9, CDK9)和细胞周期蛋白 T(cyclin T, CycT)1/2 组成的异源二聚体复合物,对 RNAP II 由转录暂停向生产性延伸的过渡至关重要^[15]。细胞中绝大多数 P-TEFb 在与 7SK 小核核糖核蛋白(7SK small nuclear ribonucleoprotein, 7SK snRNP)的复合物中以非活性形式被发现。然而,当 Tat 在 Lys28 位点被 p300/CBP 相关因子(p300/CBP-associated factor, PCAF)乙酰化时,P-TEFb 可以被 Tat 招募到 HIV-1 启动子上。Tat 的激活域在与

CycT1 和 CDK9 的 t 环相互作用时折叠^[16]。这些相互作用稳定了 P-TEFb,并促进了 CDK9 在 C 端丝氨酸/苏氨酸簇上的自磷酸化,这是在转录暂停的 RNAP II 附近形成 TAR/Tat/P-TEFb 复合物所必需的^[17]。Tat 和 P-TEFb 翻译后修饰(post-translational modifications, PTMs),如乙酰化、甲基化、磷酸化、多泛素化,在 TMT 的调控中也发挥着重要作用^[18]。

RNAP II 从 HIV-1 基因组起始位点的暂停到转录延伸的转变依赖于 CDK9 对几个蛋白靶点的磷酸化^[19]。CDK9 不仅磷酸化 RNAP II C 端结构域(C-terminal domain, CTD)七肽重复序列的 Ser2,还磷酸化损害转录的 RNAP II 结合因子,如负延伸因子复合物(negative elongation factor complex, NELF)和 DRB 敏感性诱导因子(DRB sensitivity-inducing factor, DSIF)^[20]。NELF-E 亚基的磷酸化,促进复合物的释放,增加清除 RNAP II 的速率。DSIF 的 Spt5 亚基磷酸化,将其转化为一个正延伸因子,然后将 Tat-SF1 和人类聚合酶相关因子复合物 1(polymerase-associated factor complex 1, PAF1)招募到聚合酶中,以促进完整的 RNAP II 活性^[21]。研究表明,Tat 和 P-TEFb 可以在延伸过程中与 RNAP II 保持高度相关性,并维持数个关联/解离周期;同时,高效加工的 RNAP II 延伸复合物可以使全长病毒 mRNA 的转录增加两个数量级以上^[22]。

综上所述,Tat 特异性结合 HIV-1 TAR 是调控转录延伸的核心步骤,但是仅有结合并不足以发挥作用,还需要宿主其他细胞因子的参与。Mancebo 等^[23]发现,P-TEFb 是 Tat 介导的 HIV-1 转录反式激活的重要细胞因子,Tat 通过结合 CycT1 刺激 CDK9 并间接诱导负责 HIV-1 转录的 RNAP II 的磷酸化。因此,Tat 有效激活 HIV-1 转录延伸取决于其结合 TAR 的特异性以及招募活性 P-TEFb 的有效性,其中 Tat/P-TEFb 也是实现开发新抗 HIV-1 药物的重要靶点^[24]。

2 HIV-1 转录延伸的早期事件:释放活性 P-TEFb

P-TEFb 作为 7SK snRNP 复合物的一部分存在于所有细胞中,主要处于非活性状态^[25]。7SK snRNP 复合物包括 7SK snRNA、甲基磷酸酶封顶酶(methylphosphatase capping enzyme, MePCE)以及 CDK9 抑制蛋白的同源二聚体六亚乙基双乙酰胺诱

导 1/2(hexamethylene bisacetamide inducible 1 or 2, HEXIM1/2)^[26]。7SK snRNA 具有三维 4 茎环结构,可以作为 La 核糖核蛋白结构域家族成员 7(La ribonucleoprotein domain family member 7, LARP7)的结合 RNA。LARP7 的主要功能是通过结合茎环 4 和 3' 端来保护 7SK snRNA 免受核降解,并通过与 CDK9 直接关联,促进 P-TEFb/7SK snRNP 的相互作用^[27]。MePCE 还通过在茎环 1 的基部结合,并在 5' 端上添加一个甲基磷酸帽来稳定 7SK snRNA。HEXIM1 直接与 CycT1 结合,可导致 P-TEFb 激酶活性的失活^[28]。

2.1 P-TEFb 释放: Tat 与 HEXIM1 竞争结合 7SK snRNP 释放 P-TEFb 的一种机制是 Tat 和 HEXIM1 直接竞争结合 CycT1 和(或)7SK snRNA^[29]。体外研究表明,Tat 和 HEXIM1 都可以通过相同的 N 端 CycT1 结合位点竞争招募 P-TEFb,但 Tat/CycT1 的亲合力为 HEXIM1 的 10 倍。因此,Tat 比 HEXIM1 具有优势^[30]。此外,超延伸复合物中的 AF4/FMR2 家族成员 1(AF4/FMR2 family member 1, AFF1)也可以增加 Tat 对 CycT1 的亲合力,支持 Tat 与 HEXIM1 竞争 P-TEFb 的释放^[31]。鉴于 Tat ARM 和 HEXIM1 7SK snRNA 结合域之间的高度同源性,Tat ARM 也可以通过结合 7SK snRNA 的茎环 1 内的 TAR 样基序来干扰 HEXIM1 与 7SK snRNA 的关联^[32]。然而,该模型支持 Tat/P-TEFb 释放主要在体外使用蛋白过表达和非化学计量条件,并不能完全反映体内情况,也不能完全解释 Tat 如何结合已经被 HEXIM1 占据的 CycT1 结合位点。因此,同样有其他研究指出,PTMs 如 Tat 和 CycT1 乙酰化、CDK9 和 HEXIM1 磷酸化/去磷酸化,需要触发 P-TEFb 从抑制性 7SK snRNP 复合物结合/解离^[33]。

2.2 P-TEFb 释放: P-TEFb/7SK snRNP PTMs 的影响 HEXIM1 磷酸化是从 7SK snRNP 复合物中释放失活 P-TEFb 的一个步骤。研究表明,六亚甲基双乙酰胺(hexamethylene bisacetamide, HMBA)可以激活 PI3K/Akt 激酶通路,导致 HEXIM1 CycT1 结合域在 Thr270 和 Ser278 位点磷酸化,并随后从 HEXIM1 中释放 P-TEFb^[34]。此外,通过研究 Jun N 端蛋白激酶抑制剂 AS601245,发现了该蛋白激酶在 HIV-1 潜伏期再激活中具有积极作用,这一事件可能是由与 HEXIM1 的非活性复合物释放 P-TEFb 介导的^[35]。一项研究利用蛋白亲和纯化分析了 PMA

激活,揭示了271位和274位两个Tyr磷酸化从7SK snRNP中释放P-TEFb的重要性。双突变体Tyr271Glu/Tyr274Glu完全抑制了HEXIM1/P-TEFb的形成,而一个阻碍271/274位点磷酸化的突变体则完全阻断了P-TEFb的释放^[36]。然而,还需要进一步的研究来确定负责HEXIM1磷酸化的激酶及其一般调控。

蛋白磷酸酶 Mg^{2+}/Mn^{2+} 依赖的1G(protein phosphatase, Mg^{2+}/Mn^{2+} dependent 1G, PPM1G)在7SK snRNP复合物中释放P-TEFb的两步机制中是必需的^[37]。如前所述,需要CDK9在Thr186位点的磷酸化才能将P-TEFb解离到7SK snRNP。然而,在Tat依赖的反转录激活过程中,也需要相同的Thr186磷酸化。这产生了一个假设,即P-TEFb在Thr186位点磷酸化,而被7SK snRNP复合物上的HEXIM1抑制,但处于预激活状态,以促进激活时向转录延伸的快速过渡^[38]。Tat将PPM1G磷酸酶招募到LTR结合的7SK snRNP复合物中,以促进CDK9在Thr186位点的去磷酸化,消除P-TEFb/HEXIM1的相互作用,导致随后转录延伸因子的释放^[37]。PPM1A是同一家族的一种磷酸酶,也可以在静息记忆 $CD4^+$ T细胞中结合CDK9 186位点的Thr并去磷酸化CDK9,但在上述研究中不能结合Tat或7SK snRNP复合物^[39]。因此,需要更多的研究来充分了解PPM1A磷酸酶活性在P-TEFb释放中的相关性。在PPM1G将CDK9去磷酸化后,P-TEFb被Tat识别,增强CDK9的自磷酸化和TAR/Tat/P-TEFb组装。该研究更好地理解Tat依赖的P-TEFb招募到暂停的RNAP II,以诱导快速基因激活并切换到有效的转录延伸。值得注意的是,PPM1G也可以在TNF- α 激活时启动7SK snRNP复合物的P-TEFb释放,但仅在炎症通路的特定细胞基因上^[37]。这并不是第一次发现磷酸酶通过去磷酸化CDK9 Thr186来参与7SK snRNP的P-TEFb释放。事实上,Tat也可以结合蛋白磷酸酶-1,促进其转位到细胞核,在CDK9去磷酸化后,释放P-TEFb,这是TMT激活的一个必要步骤^[40]。

2.3 P-TEFb释放:Tat与溴域蛋白4(bromodomain protein 4, Brd4)竞争除了Tat,Brd4也可以招募活性P-TEFb并从7SK snRNP释放HEXIM1^[41]。因此,一部分P-TEFb存在于Brd4的复合物中,而不被7SK snRNP复合物失活^[42]。Brd4属于BRD含蛋白大家族,BRD含蛋白是一组不同的转录调控因子,

结合组蛋白和转录因子上的乙酰赖氨酸残基,很容易被小分子靶向^[43]。事实上,已知Brd2和Brd4都可以调节HIV的潜伏期,而一种众所周知的针对这些蛋白的Brd抑制剂(JQ1),可以诱导有效的HIV重新激活^[44]。鉴于乙酰转移酶(p300/CBP)在调节HIV转录中的重要性,多个含Brd的蛋白可能调控HIV-1的转录^[45]。因此,抑制Brd4功能被认为是从潜伏宿主重新激活病毒的可行选择,这是“Shock and Kill”策略的第一步^[46]。这种方法结合了使用潜伏期逆转剂的重新激活“Shock”事件和诱导强大的抗HIV-1免疫反应以“Kill”重新激活的潜伏感染细胞。

Brd4与细胞启动子附近乙酰化的H3/H4组蛋白结合,使P-TEFb能够接触中介复合物,促进P-TEFb依赖的转录^[47]。需要注意的是,中介复合物,而不是中介CDK8模块,可以与Tat相互作用和通过MED14亚基的中间体招募来诱导TMT^[48]。类似的招募机制似乎也发生在HIV-1启动子上,早期数据支持Brd4在Tat不依赖的HIV-1基础转录上的积极作用^[49]。其它主要基于Brd4过表达的研究指出,Brd4可能通过与Tat直接竞争P-TEFb,对Tat依赖的转录有抑制作用^[50]。Brd4/Tat竞争也得到了研究的支持,这些研究表明,Brd抑制剂可以以明显的Tat依赖的方式从潜伏期重新激活HIV-1^[51]。然而,JQ1和其它Brd抑制剂也能够从TAR/Tat轴缺陷的细胞系(ACH-2、U1)或缺乏Tat(J-Lat A72)的细胞系中重新激活潜伏的HIV-1,至少支持Tat独立机制的存在^[52]。尽管如此,如果生物学上相关,Brd4和Tat对P-TEFb的竞争在初级潜伏记忆 $CD4^+$ T细胞,其中Tat在表达较低的情况下尤其明显^[53]。

有限数量的Tat和Brd4表达都是影响HIV潜伏期的因素。通过平衡Brd4/CDK9和Tat/CDK9之间的相互作用比例,证明了CDK9 Ser175磷酸化在调节TMT中的决定作用^[54]。Ser175存在于CDK9的激活环中,对与Tat的相互作用很重要,但它似乎对与Brd4的相互作用至关重要,因为丙氨酸突变消除了它们的关联。此外,CDK9 Ser175磷酸化降低了与Brd4的结合,并略微增强了与Tat的相互作用,稳定了Tat/CDK9复合物,并将P-TEFb排除在7SK snRNP复合物之外。CDK9 Ser175磷酸化在潜伏记忆 $CD4^+$ T细胞中更为相关,在这些细胞中,残留的Tat对P-TEFb招募更具竞争力,以促进转录延长。

2.4 P-TEFb释放:SR-剪接因子(SR-splicing fac-

tors, SRSF1/2 的作用 SRSF1 和 SRSF2 都与 7SK snRNA 相关,可以通过 7SK snRNP 被招募到内源性活性启动子,以调节细胞转录暂停释放^[55]。一项主要关注 SRSF2 的研究表明,该 SR 蛋白可能与 TAR/Tat 激活机制类似,通过与 SRSF2 的 P-TEFb 结合到 SRSF2 与新生启动子近端 RNA 上的外显子剪接增强子结合位点一起释放。因此,该剪接增强子被用作转录延伸信号来触发转录,并参与一系列招募超延伸复合物的事件,最终导致在基因启动子上的 RNAP II 暂停释放^[55]。一项聚焦于 HIV-1 转录的研究表明,在感染早期,剪接因子 SRSF1 通过从 7SK snRNP 复合物中直接招募 P-TEFb 到 TAR 序列,在基础转录中发挥作用^[56]。SRSF1 通过与 Tat 竞争 TAR 凸起和顶端环上部分重叠的序列,并与 7SK snRNA 的序列结合,下调 Tat 依赖的反转录激活。上述结果表明,SR 蛋白通过直接与病毒或基因启动子结合,在细胞和 HIV-1 的转录调控中发挥作用,从而释放和招募 P-TEFb。

3 小 结

病毒蛋白 Tat 与 P-TEFb 协同调控的转录延伸过程,在 HIV-1 整个复制周期中发挥核心作用,增强转录效率。在过去的几年中,人们开展了大量关于 RNAP II 启动子近端以 Tat 依赖的方式释放转录暂停的研究,阐明了含 P-TEFb 的复合物在 TMT 中的作用。与此同时,该领域还需要更多的研究来完全了解 Tat/P-TEFb 依赖的转录调控,例如,揭示参与调控 Tat/P-TEFb 复合物形成的具体翻译后修饰事件, TAR/Tat/P-TEFb 的高分辨率结构,以及涉及 TMT 的含 P-TEFb 复合物的其他结构。此外, HIV-1 前病毒本身作为 T 细胞激活状态的传感器,对潜伏期 HIV-1 的研究也强调了 P-TEFb 在其中的核心作用。一方面, P-TEFb 的生物发生是 T 细胞生物学中的中心分子机制,是调节 T 细胞从记忆过渡到效应细胞转录的重要分子;另一方面, P-TEFb 还是被 Tat 释放后选择性重激活 HIV-1 有效表达的重要蛋白。综上所述,任何成功逆转 HIV-1 潜伏期的尝试都需要有效诱导 P-TEFb。

参考文献:

[1] KLATT N R, CHOMONT N, DOUEK D C, et al. Immune

- activation and HIV persistence: implications for curative approaches to HIV infection[J]. Immunological reviews, 2013, 254(1):326-342.
- [2] PANNUS P, RUTSAERT S, DE WIT S, et al. Rapid viral rebound after analytical treatment interruption in patients with very small HIV reservoir and minimal on-going viral transcription[J]. Journal of the international AIDS society, 2020, 23(2):e25453.
- [3] SILICIANO J D, KAJDAS J, FINZI D, et al. Long-term follow-up studies confirm the stability of the latent reservoir for HIV-1 in resting CD4⁺ T cells[J]. Nature medicine, 2003, 9(6):727-728.
- [4] KIM Y, ANDERSON J L, LEWIN S R. Getting the “Kill” into “Shock and Kill”: Strategies to Eliminate Latent HIV [J]. Cell host & microbe, 2018, 23(1): 14-26.
- [5] CARY D C, FUJINAGA K, PETERLIN B M. Molecular mechanisms of HIV latency[J]. The journal of clinical investigation, 2016, 126(2): 448-454.
- [6] MBONYE U, KIZITO F, KARN J. New insights into transcription elongation control of HIV-1 latency and rebound [J]. Trends in immunology, 2023, 44(1):60-71.
- [7] KAO S Y, CALMAN A F, LUCIW P A, et al. Anti-termination of transcription within the long terminal repeat of HIV-1 by tat gene product[J]. Nature, 1987, 330(6147): 489-493.
- [8] TOOHEY M G, JONES K A. In vitro formation of short RNA polymerase II transcripts that terminate within the HIV-1 and HIV-2 promoter-proximal downstream regions [J]. Genes development, 1989, 3(3):265-282.
- [9] JEANG K T, XIAO H, RICH E A. Multifaceted activities of the HIV-1 transactivator of transcription, Tat[J]. The Journal of biological chemistry, 1999, 274(41): 28837-28840.
- [10] CHEN B. Molecular mechanism of HIV-1 entry[J]. Trends in microbiology, 2019, 27(10): 878-891.
- [11] LU H, LI Z, XUE Y, et al. Viral-host interactions that control HIV-1 transcriptional elongation[J]. Chemical reviews, 2013, 113(11): 8567-8582.
- [12] MBONYE U, KARN J. The cell biology of HIV-1 latency and rebound[J]. Retrovirology, 2024, 21(1):6.
- [13] JEANG K T, SHANK P R, RABSON A B, et al. Synthesis of functional human immunodeficiency virus tat protein in baculovirus as determined by a cell-cell fusion assay [J]. Journal of virology, 1988, 62(10):3874-3878.
- [14] DINGWALL C, ERNBERG I, GAIT M J, et al. HIV-1 tat protein stimulates transcription by binding to a U-rich

- bulge in the stem of the TAR RNA structure[J]. The EMBO journal, 1990, 9(12):4145-4153.
- [15] MANCEBO H S, LEE G, FLYGARE J, et al. P-TEFb kinase is required for HIV Tat transcriptional activation in vivo and in vitro[J]. Genes development, 1997, 11(20): 2633-2644.
- [16] MARSHALL N F, PRICE D H. Control of formation of two distinct classes of RNA polymerase II elongation complexes[J]. Molecular and cellular biology, 1992, 12(5): 2078-2090.
- [17] BARBORIC M, YIK J H, CZUDNOCHOWSKI N, et al. Tat competes with HEXIM1 to increase the active pool of P-TEFb for HIV-1 transcription[J]. Nucleic acids research, 2007, 35(6):2003-2012.
- [18] D'ORSO I, FRANKEL A D. Tat acetylation modulates assembly of a viral-host RNA-protein transcription complex [J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 2009, 106(9):3101-3106.
- [19] GARBER M E, MAYALL T P, SUESS E M, et al. CDK9 autophosphorylation regulates high-affinity binding of the human immunodeficiency virus type 1 tat-P-TEFb complex to TAR RNA[J]. Molecular and cellular biology, 2000, 20(18):6958-6969.
- [20] PETERLIN B M, PRICE D H. Controlling the elongation phase of transcription with P-TEFb[J]. Molecular cell, 2006, 23(3):297-305.
- [21] YAMAGUCHI Y, SHIBATA H, HANDA H. Transcription elongation factors DSIF and NELF: promoter-proximal pausing and beyond[J]. Biochimica et biophysica acta, 2013, 1829(1):98-104.
- [22] MOLLE D, MAIURI P, BOIREAU S, et al. A real-time view of the TAR: Tat: P-TEFb complex at HIV-1 transcription sites[J]. Retrovirology, 2007, 4:36.
- [23] MANCEBO H S, LEE G, FLYGARE J, et al. P-TEFb kinase is required for HIV Tat transcriptional activation in vivo and in vitro[J]. Genes development, 1997, 11(20): 2633-2644.
- [24] ASAMITSU K, FUJINAGA K, OKAMOTO T. HIV Tat/ P-TEFb interaction: a potential target for novel anti-HIV therapies[J]. Molecules, 2018, 23(4): 933.
- [25] MICHELS A A, NGUYEN V T, FRALDI A, et al. MAQ1 and 7SK RNA interact with CDK9/cyclin T complexes in a transcription-dependent manner[J]. Molecular and cellular biology, 2003, 23(14):4859-4869.
- [26] YIK J H, CHEN R, NISHIMURA R, et al. Inhibition of P-TEFb (CDK9/Cyclin T) kinase and RNA polymerase II transcription by the coordinated actions of HEXIM1 and 7SK snRNA[J]. Molecular cell, 2003, 12(4):971-982.
- [27] MARKERT A, GRIMM M, MARTINEZ J, et al. The La-related protein LARP7 is a component of the 7SK ribonucleoprotein and affects transcription of cellular and viral polymerase II genes[J]. EMBO reports, 2008, 9(6): 569-575.
- [28] MUNIZ L, EGLOFF S, KISS T. RNA elements directing in vivo assembly of the 7SK/MePCE/Larp7 transcriptional regulatory snRNP[J]. Nucleic acids research, 2013, 41(8):4686-4698.
- [29] QUARESMA A J C, BUGAI A, BARBORIC M. Cracking the control of RNA polymerase II elongation by 7SK snRNP and P-TEFb[J]. Nucleic acids research, 2016, 44(16):7527-7539.
- [30] BARBORIC M, YIK J H, CZUDNOCHOWSKI N, et al. Tat competes with HEXIM1 to increase the active pool of P-TEFb for HIV-1 transcription[J]. Nucleic acids research, 2007, 35(6):2003-2012.
- [31] LU H, LI Z, XUE Y, et al. AFF1 is a ubiquitous P-TEFb partner to enable Tat extraction of P-TEFb from 7SK snRNP and formation of SECs for HIV transactivation[J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 2014, 111(1):e15-e24.
- [32] YIK J H, CHEN R, PEZDA A C, et al. A human immunodeficiency virus type 1 Tat-like arginine-rich RNA-binding domain is essential for HEXIM1 to inhibit RNA polymerase II transcription through 7SK snRNA-mediated inactivation of P-TEFb[J]. Molecular and cellular biology, 2004, 24(12):5094-5105.
- [33] CHO S, SCHROEDER S, KAEHLCKE K, et al. Acetylation of cyclin T1 regulates the equilibrium between active and inactive P-TEFb in cells[J]. The EMBO journal, 2009, 28(10):1407-1417.
- [34] CHOUDHARY S K, ARCHIN N M, MARGOLIS D M. Hexamethylbisacetamide and disruption of human immunodeficiency virus type 1 latency in CD4⁺ T cells[J]. The journal of infectious diseases, 2008, 197(8):1162-1170.
- [35] WOLSCHEENDORF F, BOSQUE A, SHISHIDO T, et al. Kinase control prevents HIV-1 reactivation in spite of high levels of induced NF-kappaB activity[J]. Journal of virology, 2012, 86(8):4548-4558.
- [36] MBONYE U R, WANG B, GOKULRANGAN G, et al. Phosphorylation of HEXIM1 at Tyr271 and Tyr274 promotes release of P-TEFb from the 7SK snRNP complex and enhances proviral HIV gene expression[J]. Proteomi-

- cs, 2015, 15(12):2078-2086.
- [37] MCNAMARA R P, MCCANN J L, GUDIPATY S A, et al. Transcription factors mediate the enzymatic disassembly of promoter-bound 7SK snRNP to locally recruit P-TEFb for transcription elongation[J]. *Cell reports*, 2013, 5(5): 1256-1268.
- [38] LU H, LI Z, XUE Y, et al. Viral-host interactions that control HIV-1 transcriptional elongation[J]. *Chemical reviews*, 2013, 113(11):8567-8582.
- [39] BUDHIRAJA S, RAMAKRISHNAN R, RICE A P. Phosphatase PPM1A negatively regulates P-TEFb function in resting CD4(+) T cells and inhibits HIV-1 gene expression[J]. *Retrovirology*, 2012, 9:52.
- [40] AMMOSOVA T, JEREBSOVA M, BEULLENS M, et al. Nuclear targeting of protein phosphatase-1 by HIV-1 Tat protein[J]. *The journal of biological chemistry*, 2005, 280(43):36364-36371.
- [41] KRUEGER B J, VARZAVAND K, COOPER J J, et al. The mechanism of release of P-TEFb and HEXIM1 from the 7SK snRNP by viral and cellular activators includes a conformational change in 7SK[J]. *Plos one*, 2010, 5(8): e12335.
- [42] JANG M K, MOCHIZUKI K, ZHOU M, et al. The bromodomain protein Brd4 is a positive regulatory component of P-TEFb and stimulates RNA polymerase II-dependent transcription[J]. *Molecular cell*, 2005, 19(4): 523-534.
- [43] SANCHEZ R, ZHOU M M. The role of human bromodomains in chromatin biology and gene transcription[J]. *Current opinion in drug discovery & development*, 2009, 12(5):659-665.
- [44] BANERJEE C, ARCHIN N, MICHAELS D, et al. BET bromodomain inhibition as a novel strategy for reactivation of HIV-1[J]. *Journal of leukocyte biology*, 2012, 92(6):1147-1154.
- [45] ARCHIN N M, MARGOLIS D M. Emerging strategies to deplete the HIV reservoir[J]. *Current opinion in infectious diseases*, 2014, 27(1):29-35.
- [46] MARGOLIS D M, GARCIA J V, HAZUDA D J, et al. Latency reversal and viral clearance to cure HIV-1[J]. *Science*, 2016, 353(6297):6517.
- [47] LU X, ZHU X, LI Y, et al. Multiple P-TEFbs cooperatively regulate the release of promoter-proximally paused RNA polymerase II[J]. *Nucleic acids research*, 2016, 44(14):6853-6867.
- [48] RUIZ A, PAULS E, BADIA R, et al. Characterization of the influence of mediator complex in HIV-1 transcription [J]. *The journal of biological chemistry*, 2014, 289(40): 27665-27676.
- [49] YANG Z, YIK J H, CHEN R, et al. Recruitment of P-TEFb for stimulation of transcriptional elongation by the bromodomain protein Brd4[J]. *Molecular cell*, 2005, 19(4):535-545.
- [50] BISGROVE D A, MAHMOUDI T, HENKLEIN P, et al. Conserved P-TEFb-interacting domain of BRD4 inhibits HIV transcription[J]. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 2007, 104(34):13690-13695.
- [51] ZHU J, GAIHA G D, JOHN S P, et al. Reactivation of latent HIV-1 by inhibition of BRD4[J]. *Cell reports*, 2012, 2(4):807-816.
- [52] BOEHM D, CALVANESE V, DAR R D, et al. BET bromodomain-targeting compounds reactivate HIV from latency via a Tat-independent mechanism[J]. *Cell cycle*, 2013, 12(3):452-462.
- [53] YUKL S, PILLAI S, LI P, et al. Latently-infected CD4⁺ T cells are enriched for HIV-1 Tat variants with impaired transactivation activity[J]. *Virology*, 2009, 387(1): 98-108.
- [54] MBONYE U R, GOKULRANGAN G, DATT M, et al. Phosphorylation of CDK9 at Ser175 enhances HIV transcription and is a marker of activated P-TEFb in CD4⁺ T lymphocytes[J]. *Plos pathogen*, 2013, 9(5):e1003338.
- [55] JI X, ZHOU Y, PANDIT S, et al. SR proteins collaborate with 7SK and promoter-associated nascent RNA to release paused polymerase[J]. *Cell*, 2013, 153(4):855-868.
- [56] PAZ S, KRAINER A R, CAPUTI M. HIV-1 transcription is regulated by splicing factor SRSF1[J]. *Nucleic acids research*, 2014, 42(22):13812-13823.
- 本文引用格式:
胡淑婧,邓 凯.HIV-1 转录延伸调控潜伏感染的分子机制[J].广西医科大学学报,2024,41(10):1331-1337. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.10.002
HU S J, DENG K. The molecular mechanism of HIV-1 transcriptional elongation regulating latent infection[J]. *Journal of Guangxi medical university*, 2024, 41(10): 1331-1337. DOI:10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.10.002