# 病毒受体的研究方法\*

## 丁天兵\*\*,任君萍,马文煜

(第四军医大学基础部微生物学教研室、陕西西安 710032)

### **Methods for the Study of Virus Receptors**

DING Tian-bing\*\*, REN Jun-ping, MA Wen-yu

(Department of Microbiology, The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China)

关键词:病毒;受体;方法

中图分类号: O7 文献标识码: A 文章编号: 1003-5125(2006)02-0189-05

### 1 概况

病毒受体可以定义为位于宿主细胞表面能够 被病毒吸附蛋白识别并与之结合,从而引起病毒感 染的分子复合物,其化学本质是糖蛋白、蛋白聚糖、 脂类或糖脂,大多数属于蛋白质。病毒受体可以是 单体也可以是多分子复合物,具有特异性、高亲和 性、饱和性、结合位点及靶细胞部位的有限性以及 独特的生物学活性等[1]。病毒受体是公认的引发病 毒感染宿主细胞的主要决定因素,也是影响病毒宿 主特异性和组织亲嗜性的决定因素之一。研究病毒 受体的特性及其功能对于从分子水平阐明病毒感 染与免疫的机制,深刻理解病毒与宿主细胞的相互 关系,研制更有效的病毒疫苗、抗病毒药物和诊断 试剂,以及病毒分类等,都具有重大的实践与理论 意义。近年来,随着技术的发展和受体研究的深入, 人们已经明确的病毒受体也越来越多,如HIV的受 体为CD4,麻疹病毒的受体为CD46(膜辅助因子蛋 白),埃可病毒受体是蛋白质降解加速因子(DAF), 鼻病毒和脊髓灰质炎病毒受体为细胞间粘附分子 (ICAM-1), EB病毒受体为CD21, 狂犬病毒受体 为乙酰胆碱受体,猫免疫缺陷病毒受体是CD134<sup>[2-4]</sup> (参见下表1)。

一种分子可以是多种病毒的受体,如整合素(Integrin)可以是人疱疹病毒 8、腺病毒、轮状病毒、口蹄疫病毒、汉坦病毒、人乳头瘤病毒16型、艾博拉病毒、柯萨奇病毒A9、埃可病毒1、2、9、22型、人免疫缺陷病毒(HIV-1)的受体; CD46可

以是麻疹病毒、人疱疹病毒6型、腺病毒Ad3,11,35,37和牛病毒性腹泻病毒的受体<sup>[5,6]</sup>。出现这种情况的主要原因一是某些分子型别很多,如整合素就有多达16个型,不同的病毒可以各自识别不同的型别;二是不同的病毒识别同一分子不同的位点,如麻疹病毒和人疱疹6型(HHV6)就分别识别CD46不同的位点。反过来,一种病毒也可以利用多种不同性质的细胞分子作为其受体,比如HCV就可以结合LDL-R(低密度脂蛋白受体)和CD81<sup>[7]</sup>,轮状病毒(Rotavirus)可以分别利用唾液酸(sialic acid, SA)和整合素α2β1<sup>[8]</sup>。此外,有时病毒要穿入宿主细胞除了和病毒受体结合外还需要借助其他分子才能进入宿主细胞,完成感染的过程。这些分子有时也被认为是病毒受体,或者是辅受体<sup>[9]</sup>。

21 (2): 189-193

March 2006

表1 作为病毒受体的细胞分子

Table 1 Cell surface molecules acting as viral receptors

| 病毒     | 受体分子         | 受体分子的分布   |
|--------|--------------|-----------|
| HIV    | CD4,趋化因子受体   | T细胞,巨噬细胞  |
| 麻疹病毒   | CD46 (补体受体)  | 白细胞,上皮细胞  |
| EB病毒   | CD21 (补体受体)  | B细胞,树突状细胞 |
| 鼻病毒    | CD54 (粘附分子,  | 淋巴细胞,单核细胞 |
|        | ICAM-I)      | 上皮细胞,内皮细胞 |
| ECHO病毒 | CD55 (补体调节   | 白细胞       |
|        | 分子DAF)       |           |
|        | CD49b ( 粘附分子 | 淋巴细胞,单核细胞 |
|        | β1整合素)       | 血小板       |
| 巨细胞病毒  | CD13         | 单核细胞,粒细胞  |
| 冠状病毒   | CD13         | 单核细胞,粒细胞  |
| 狂犬病毒   | 乙酰胆碱受体       | 神经—肌肉接头   |

收稿日期:2005-09-05,修回日期:2005-11-02

Correspoding allthor. Tel: 029-84774526; E-mail: dingtb@fmmu.edu.cn

<sup>\*</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助(批准号30470091)

<sup>\*\*</sup> 通讯作者:丁天兵(1966-),男,江苏省南京籍,副教授,博士,目前的研究方向为病毒受体及其功能。

在目前已知的受体中,几乎全部都是宿主细胞膜相关的脂蛋白及糖蛋白,参与执行各自正常的细胞生理功能。由于这些膜蛋白的数量很少(细胞膜上中等丰度的受体约有10<sup>3</sup>个受体分子,1升纯细胞培养物中也不超过100ng<sup>[10]</sup>),因此,要分离、纯化这些蛋白质也不是一件很容易的事情。

一般情况下,人们研究病毒受体的策略通常是首先在病毒易感细胞上确认受体,然后纯化受体蛋白,最终得到受体基因并进行鉴定。鉴定病毒受体时主要应做以下实验予以鉴定: 在病毒敏感细胞上进行病毒结合的阻断实验; 在病毒非敏感细胞上进行病毒受体重建以及受体重建后的病毒感染试验。其中以后者更为重要。

由于病毒受体绝大多数是蛋白质,因此,研究 受体的方法大体上就是研究蛋白质相互作用的方 法,换句话说,几乎所有的研究蛋白质相互作用的 方法都可以用于病毒受体的研究。以下我们将就研 究病毒受体的主要方法进行综述。在这里,我们把 研究病毒受体的方法人为地分为传统的经典方法 和现代分子生物学方法两大类。

### 2 经典方法

### 2.1 利用已有的知识

是指利用已有的基础和各科临床知识,经过合理的推测和判断,认定某个分子是病毒的受体。譬如,在丙型肝炎患者体内的血浆脂蛋白中可检出HCV RNA,初步认为肝细胞膜上的低密度脂蛋白受体(LDL-R)可以识别、结合和内化与低密度脂蛋白/极低密度脂蛋白结合的HCV,后经实验证实从而确定LDL-R就是HCV的受体(后来发现是受体之一)[11~13]。

### 2.2 亲合层析

将病毒或病毒吸附蛋白(Viral attachment protein, VAP)偶联到亲和层析柱Sepherose4B上,然后与完整细胞溶解液或细胞膜溶解液中的受体成份专一性结合,洗脱组分即为病毒的细胞膜受体[14]。此法有成功的个例,但比较少,这主要取决于受体蛋白的理化特性。

#### 2.3 抗细胞受体法

方法一:即用一组特异性的膜相关蛋白单克隆抗体筛选受体。具体方法是:易感细胞和特异性膜相关蛋白单克隆抗体混合,然后进行病毒感染,筛选未感染细胞,那么单抗针对的膜蛋白就是受体。早先CD4就是这样被发现是HIV的基本受体组分之一<sup>[15]</sup>。最近,又有人用这种方法发现牛的CD46是牛病毒性腹泻病毒的细胞受体<sup>[6]</sup>。

在寻找麻疹病毒受体的时候 ,Dorig等人居然用

了3000株针对膜蛋白的单克隆抗体进行筛选,结果只找到1株单克隆抗体能够阻断麻疹病毒和易感细胞的融合,最后终于明确了CD46才是麻疹病毒的细胞受体<sup>[16]</sup>。看的出,这种方法的效率并不高,存在一定的偶然性。

方法二:采用病毒易感细胞或膜蛋白提取物免疫动物,获得抗病毒受体的单克隆抗体,然后再用单克隆抗体进行免疫层析,设法纯化受体蛋白,并对受体进行定性。这方面的例子有冠状病毒和麻疹病毒<sup>[17,18]</sup>。相比较而言,方法二比方法一更容易实现。

#### 2.4 抗独特型抗体法

根据Jerne的免疫网络学说,作为内影像组的抗独特型抗体在结构和功能上能模拟相应的外来抗原,因此也就能用于模拟病毒(或者病毒VAP)来寻找细胞受体蛋白。通常,要选择病毒的中和抗体制备抗独特型抗体,这样做出的抗独特型抗体才能很好地模拟病毒抗原。这方面成功的例子有狂犬病毒受体和Sindbis病毒受体<sup>[19,20]</sup>。当然,在鉴定病毒受体活性时,还需要应用其他方法,如下面所述的VOPBA。

### 2.5 病毒覆盖蛋白结合法

即Virus overlay protein-binding assay (VOPBA), 此方法为鉴定病毒受体的经典方法,其一般做法 是:首先,提取易感细胞的膜蛋白,然后进行 SDS-PAGE,随后将蛋白转移到硝酸纤维素膜上, 最后加纯化的病毒和薄膜共同孵育,通过化学方法 显色,显示出能与病毒特异结合的蛋白条带<sup>[21]</sup>。 也有人将病毒直接用同位素标记,和薄膜作用后马 上就进行放射自显影,这样可以简化实验步骤、节 约时间<sup>[22]</sup>。此法若要成功,病毒受体蛋白须满足:

一条多肽链就具有结合病毒的能力; 病毒结合活性无需其他蛋白的辅助; 病毒结合活性不能被去垢剂灭活。通过这种方法通常只能了解病毒受体的分子量大小,不能提供有关受体蛋白的其他线索,实际上还是不能明确病毒受体到底是什么。如登革病毒受体,只知道细胞膜上有分子量80kD及67kD的两种蛋白结合了病毒<sup>[21]</sup>,仅此而已。不过,当细胞受体已知、再进行受体功能鉴定时,VOPBA仍然是一种很好的通用鉴定方法。

### 3 现代方法

近二十年来,分子生物学技术的发展为病毒受体的研究提供了更多、更有效的方法,主要包括噬菌体表面呈现技术、cDNA文库技术、酵母双杂交技术等等,下面将就这个问题进行简要的综述。

### 3.1 噬菌体表面呈现技术

噬菌体编码5种结构蛋白(PIII、PIV、PV、PVII和PVIII和PVIII),它们构成噬菌体的壳体,其中PIII和PVIII的N末端裸露在噬菌体表面。噬菌体表面呈现技术就是把外源基因插入PIII和PVIII基因中进行表达,使外源基因表达产物能够表达后暴露在噬菌体表面。其具体方法如下:首先,扩增噬菌体肽库(15肽或12肽,也有短至6肽的文库),并将配体(病毒或病毒VAP)生物素化,然后把两者混合,再经亲和素包被的平板洗脱,多次重复这种混合-洗脱(淘筛),获得富集的阳性噬菌体,最后通过PCR扩增,测序,便可以知道与配体结合的短肽的序列,即可能的细胞受体的基因序列。Hong等就将此法用于腺病毒受体的研究中并获得了成功[23]。

噬菌体表面呈现技术用于病毒受体的研究其优点在于可以高选择性地筛选复杂的混合物,也可评价受体—配体结合作用的特异性;缺点在于插入的DNA片段大小有限,并不是完整的受体基因而只是受体众多表位中的一个,要取得完整的受体基因还有许多工作要做。其次,噬菌体表达的蛋白可能与天然状态不符,或者更严重的是,测到的体外的蛋白质相互作用在体内可能根本就不存在!这些局限性在实际工作中要给予充分的注意。

### 3.2 cDNA文库

利用cDNA文库来鉴定受体蛋白也是一种常用的方法<sup>[24]</sup>。具体方法是:将含受体基因的cDNA文库转染非易感细胞,然后用病毒(或病毒VAP)筛选,克隆出可能的受体基因,再经过受体重建予以鉴定。

类似地,Rebecca等人<sup>[25]</sup>利用病毒易感细胞 cDNA文库转染病毒非易感细胞,再用改造过的含β-半乳糖苷酶的病毒感染细胞,用X-Gal原位显色,融合的显色细胞即为受体阳性细胞,从中便可获得受体基因。

### 3.3 流式细胞术

流式细胞术通常不是孤立地作为研究受体的方法,而是常常和其他方法合用。Jeffrey等<sup>[26]</sup>就用易感细胞的cDNA文库转染非易感细胞,然后病毒攻击,经流式细胞术的抗病毒抗体(一抗)和荧光标记抗体(二抗)筛选,便得到了受体阳性细胞,从中很容易地分离出了受体基因。

### 3.4 免疫共沉淀

免疫共沉淀(Coimmunoprecipitation, Co-IP)的方法相对比较成熟,其大致原理是:在溶液状态下或在细胞中,蛋白X如果能够和蛋白Y相互作用,则该复合物可以被其中任一蛋白的抗体结合发生

沉淀。具体做法如下:蛋白X和蛋白Y同在一种溶液里,先用蛋白X的抗体作用,然后吸附到蛋白A-Sepharose(或者Agarose)颗粒上,接着进行SDS-PAGE,最后用蛋白Y的抗体进行Western印迹分析(如果蛋白Y用同位素标记则进行放射自显影)。近年来,SARS冠状病毒受体便是主要通过这种方法明确的[27]。

免疫共沉淀的优点是可以直接检测细胞提取物,蛋白质接近天然状态和构象,避免了人为因素,但缺点是有可能第三者蛋白参与了沉淀,敏感性相对不如亲和层析高。

### 3.5 GST亲和层析和GST Pull-down方法

此方法的基本原理是:利用重组技术将探针蛋 白与GST (Glutathione S transferase)融合,融合蛋 白通过GST与固相化在载体上的GTH(Glutathione) 亲和结合。因此,当与融合蛋白有相互作用的蛋白 通过层析柱时或与此固相复合物混合时就可被吸 附而分离。在病毒受体研究中,融合蛋白通常设计 为病毒吸附蛋白(VAP)。这方面成功的例子有 HBV<sup>[28]</sup>。具体做法如下:将GST-融合探针蛋白 (VAP)和GTH-Sepharose制成亲和层析柱,然后待 分析的蛋白质混合液流经亲和层析柱,梯度洗脱, 分离、收集各蛋白组分,这称为GST亲和柱层析 (GST affinity column chromatography)。如果一开 始 待 检 蛋 白 就 和 GST- 融 合 探 针 蛋 白 与 GTH-Sepharose一起共同孵育,经离心收集洗脱复 合物和洗涤后,再加入过量GTH获得相互作用蛋白 的复合物,那么这种方法则称为GST pull down。

GST亲和层析及相应的GST Pull-down方法的优点是敏感,对混合物中的所有蛋白均"一视同仁",也可用于受体功能的鉴定。缺点是GST有可能影响融合蛋白的空间结构,另外,蛋白质浓度对实验也有一定影响。

### 3.6 酵母双杂交技术

许多真核生物的转录激活因子通常具有两个可独立存在的结构域,即DNA结合域(BD)与转录激活域(AD)。这两个结构域各具功能,互不影响。但一个完整的激活特定基因表达的激活因子必须同时含有这两个结构域。不同来源的激活因子的BD区与AD结合后则可特异地激活被BD结合的基因表达。基于这个原理,人们将两个待测蛋白分别与这两个结构域建成融合蛋白,并共表达于同一个酵母细胞内。如果两个待测蛋白间能发生相互作用就会使AD与BD形成完整的转录激活因子并激活相应的报告基因表达。通过对报告基因表型的测定可

以很容易地知道待测蛋白分子间是否发生了相互 作用<sup>[29]</sup>。

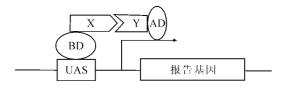


图2 酵母双杂交原理

Fig.2 Schema of double hybridization in yeast

酵母双杂交系统由三个部分组成: 与BD融合的蛋白表达载体,被表达的蛋白称诱饵蛋白(bait); AD融合的蛋白表达载体,其表达的蛋白称靶蛋白(prey); 带有一个或多个报告基因的宿主菌株。常用的报告基因有HIS3、URA3、LacZ和ADE2等。而菌株则具有相应的营养缺陷型。

双杂交质粒上分别带有不同的抗性基因和营养标记基因,有利于杂交质粒的鉴定与分离。根据目前通用系统中BD来源主要分为GAL4系统和LexA系统。后者因BD来源于原核生物,在真核生物内缺少同源性,因此可以减少假阳性的出现。

近年来,开始出现了应用酵母双杂交技术进行病毒受体研究的成功报告,如麻疹病毒的绒猴细胞受体<sup>[30]</sup>。李凌云等构建了表达"猎物"(prey)蛋白的质粒和表达病毒VAP"诱饵"(bait)蛋白的质粒,然后共转染同一酵母细胞,利用已建立的易感细胞cDNA文库,筛到了阳性克隆。

酵母双杂交技术的优点是灵敏度高,特异性较好,缺点是容易出现假阳性和假阴性,而且对蛋白质在细胞中的定位有要求。

为了克服上述缺点,人们进一步优化出所谓"双筛选系统",即蛋白质相互作用必须同时激活两个以上报道基因,具有两种以上的相应表型才算是真的阳性结果。另外,人们也改造了酵母双杂交系统所用的载体系统,将在细胞浆内发生的蛋白质相互作用转移到细胞膜上进行,以此来更容易地筛选膜蛋白受体,如Ras recruitment system (RRS)。

#### 3.7 质谱分析

质谱(Mass Spectrometry)是指带电原子、分子或分子碎片按质荷比(或质量)的大小顺序排列的图谱。现代质谱仪可将蛋白分子离子化并通过适当的电场、磁场将它们按空间位置、时间先后或者轨道稳定与否实现质荷比分离(精度可达0.1Da),通过与数据库比对便可知晓该蛋白质分子到底为何物。

Gaggar等用重组表达的腺病毒Ad35触须样纤维(VAP)获得了可能的受体蛋白,然后进行质谱

分析,最终将CD46筛出<sup>[31]</sup>。Tio等结合VOPBA、二维凝胶电泳以及质谱分析,得出的结论是层粘连蛋白受体(laminin receptor I)参与了登革病毒1、2和3型与细胞的相互作用,因此极有可能是登革病毒的受体之一<sup>[32]</sup>。最近,又有文献报告称通过质谱分析提示热休克蛋白90和70(HSP90和HSP70)是登革病毒4型的细胞受体<sup>[33]</sup>。由此看来,质谱分析是一种强有力的研究工具,将在未来的病毒受体研究中发挥越来越重要的作用。

除了上述这些研究病毒受体的方法之外,还有一些技术如表面等离子体共振(Surface plasmon resonance, SPR,又称生物传感器) 串联亲和纯化(Tandem affinity purification,即TAP技术)等技术都可用于病毒受体的研究中,只是目前还没有更多的文献报道而已[事实上,我室就正在利用TAP技术探索可与日本脑炎病毒E蛋白相互作用的分子,并已获得国家自然科学基金的资助(30400378)]。

### 4 结语

通过以上综述,我们可以很清晰地看到越来越多的新技术可以用于病毒受体的研究中。由于病毒受体绝大多数是膜相关蛋白,含量极少,往往仅靠一种方法鉴定是难以奏效的;再加上病毒受体的蛋白质性质不同,有时甲方法用于甲受体可行,用于乙受体就不行……因此,需要我们首先筛选出可能要使用的主要方法,然后根据实际情况逐一去试,并尽可能和其他研究方法有效地整合、有机地综合使用,这样才能充分发挥各方法的长处、避免缺陷,使研究工作事半功倍。

### References

- Rajcani J. Molecular mechanisms of virus spread and virion components as tools of virulence [J]. Acta Microbiol Immunol Hung, 2003, 50 (4): 407-443
- [2] Schneider-Schaulies J. Cellular receptors for viruses: links to tropism and pathogenesis [J]. J Gen Virol, 2000, 81(Part6): 1413–1429.
- [3] Mettenleiter T C. Brief overview on cellular virus receptors [J]. Virus Res, 2002; 82(1-2): 3-8.
- [4] Shimojima, Miyazawa T, Ikeda Y, *et al.* Use of CD134 as a primary receptor by the feline immunodeficiency virus [J]. Science, 2004, 303 (5661): 1192-1195.
- [5] Cattaneo R. Four viruses, two bacteria, and one receptor: membrane cofactor protein (CD46) as pathogens' magnet [J]. J Virol, 2004, 78 (9): 4385-4388.
- [6] Maurer K, Krey T, Moennig V, et al. CD46 is a cellular receptor for bovine viral diarrhea virus [J]. J Virol, 2004, 78 (4): 1792-1799.
- [7] Masciopinto F, Campagnoli S, Abrignani S, et al. The small

- extracellular loop of CD81 is necessary for optimal surface expression of the large loop, a putative HCV receptor [J]. Virus Research, 2001, 80 (1-2): 1-10.
- [8] Arias C F, Isa P, Guerrero C A, *et al.* Molecular biology of rotavirus cell entry [J]. Arch Med Res, 2002, 33 (4): 356-361.
- [9] Jackson T, King A M, Stuart D I, et al. Structure and receptor binding. Virus Res, 2003, 91 (1): 33-46.
- [10] Pandey A and Mann M. Proteomics to study genes and genomes [J]. Nature, 2000, 405: 837-846.
- [11] Thomssen R, Bonk S, Propfe C, *et al.* Association of hepatitis C virus in human sera with β-lipoprotein [J]. Med Microbiol Immunol, 1992, 181 (5): 293-300.
- [12] Monazahian M, Böhme I, Bonk S, et al. Low density lipoprotein receptor as a candidate receptor for hepatitis C virus [J]. J Med Virol, 1999, 57 (3):223-229.
- [13] Agnello V, Abel G, Elfahal M, et al. Hepatitis C virus and other Flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 1999, 96 (22): 12766-12771.
- [14] Dalziel R G, Hopkins J, Watt N J, et al. Identification of a putative cellular receptor for the lentivirus visna virus [J]. J Gen Virol, 1991, 72 (Pt8): 1905-1911.
- [15] Dalgleish A G, Beverley P C L, Clapham P R, et al. The CD4 antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus[J]. Nature, 1984, 312: 763-766.
- [16] Dorig R E, Marcil A, Chopra A, et al. The human CD46 molecule is a receptor for measles virus (Edmonston strain) [J]. Cell, 1993, 75 (2):295–305.
- [17] Yeager C L, Ashmun R A, Williams RK, et al. Human aminopeptidase N is a receptor for human coronavirus 229 E [J]. Nature, 1992; 357: 420-422.
- [18] Naniche D, Varior-Krishnan G, Cervoni F, et al. Human membrane cofactor protein (CD46) acts as a cellular receptor for measles virus [J]. J Virol, 1993, 67 (10): 6025–6032.
- [19] Hanham C A, Zhao F S, Tignor G H. Evidence from the anti-idiotypic network that the acetylcholine receptor is a rabies virus receptor [J]. J Virol, 1993; 67(1):530-542.
- [20] Wang K S, Schmaljohn A L, Kuhn R J, et al. Anti-idiotypic antibodies as probes for the Sindbis virus receptor [J]. Virology,

- 1991; 181 (2); 694-702.
- [21] Salas-Benito J S, Del-Angel R M. Identification of two surface proteins from C6/36 cells that bind Dengue type 4 virus [J]. J Virol, 1997, 71(10): 7246-7252.
- [22] Wu E, Trauger S A, Pache L, et al. Membrane cofactor protein is a receptor for adenoviruses associated with epidemic keratoc onjunctivitis [J]. J Virol, 2004, 78 (8): 3897–3905.
- [23] Hong S S, Karayan L, Tournier J, et al. Adenovirus type 5 fiber knob binds to MHC class I α2 domain at the surface of human epithelial and B lymphoblastoid cells [J]. EMBO J, 1997, 16(9): 2294-2306.
- [24] Sirena D, Lilienfeld B, Eisenhut M, et al. The human membrane cofactor CD46 is a receptor for the species B adenovirus serotype 3[J]. J Virol, 2004, 78(9): 4454–4462.
- [25] Montgomery R I, Warner M S, Lum B J, et al. Herpes simplex virus-1 entry into cells mediated by a novel member of the TNF/NGF receptor family [J]. Cell, 1996, 87 (3): 427-36.
- [26] Grave J M, Davis G, Meyer A M, et al. The major human rhinovirus receptor is ICAM-1 [J]. Cell, 1989, 56 (5): 839-847.
- [27] Li W H, Moore M J, Vasilieva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for SARS coronavirus [J]. Nature, 2003, 426 (6965): 450-454.
- [28] Ryu C J, Cho D Y, Gripon P, et al. An 80-kilodalton protein that binds to the Pre-S1 domain of hepatitis B virus [J]. J Virol, 2000, 74 (1): 110-116.
- [29] White M A. The yeast two-hybrid system: forward and reverse [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996; 93 (19): 10001-10003.
- [30] Li L Y, Liu X, Zhang P, (李凌云, 刘 鑫, 张 鹏) *et al.* Cloning and functional identification of measles virus receptor on marmoset cells [J]. Chin Sci Bull (科学通报), 2002, 47 (16): 1217-1225.
- [31] Gaggar A, Shayakhmetov D M, Lieber A. CD46 is a cellular receptor for group B adenoviruses[J]. Nat Med, 2003, 9(11): 1408-1412.
- [32] Tio P H, Jong W W, Cardosa M J. Two dimensional VOPBA reveals laminin receptor (LAMR1) interaction with dengue virus serotypes 1, 2 and 3 [J]. Virology, 2005, 2 (1): 25-36.
- [33] Reyes-Del Valle J, Chavez-Salinas S, Medina F, et al. Heat shock protein 90 and heat shock protein 70 are components of dengue virus receptor complex in human cells [J]. J Virol, 2005, 79(8): 4557-4567.