

病毒解碼

VirusDecoder

神鬼認證

解碼伊波拉(埃博拉)病毒

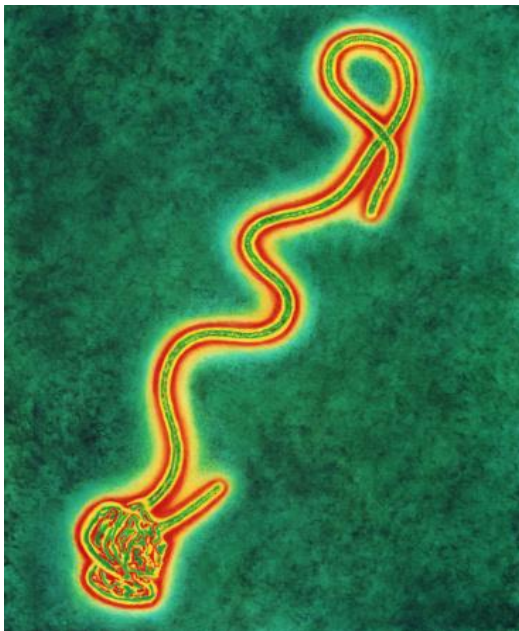
借力「一滴油的處方_{(繁體)(简体)}」(第4頁): 佔「細胞膜_(c)」表面積一半以上的
「脂筏_{(c)(c)}」信號轉導_(e)/復活_(e)/識別_(e)與認證_(e)的伊波拉(埃博拉)病毒研究_{(e)(c)(e)}

這是一個「醫師科學家_(c)」以「系統生物醫學」的「分析與整合_(c)」
臨床轉化醫學生物營養_(c)看病的「病因」根本治病時代。

一併決戰: 流感病毒_(c), 超級流感_(c), 甲型流感病毒_(c), 禽流感_{(c)(c)}, 腸病毒_{(c)(c)},
SARS 冠狀病毒(重症急性呼吸綜合症)_{(c)(c)(後遺症)}, 耐萬古黴素腸球菌(VRE)_{(c)(c)},
抗藥性金黃色葡萄球菌(MRSA)_{(c)(c)(c)}, 中毒性休克綜合症(TSS)_{(c)(c)(c)(c)}, 炭疽
(₍₄₎ ₍₁₎)桿菌(Anthrax)_{(c)(c)(c)(c)}。

從「1918 年流感大流行, 時機是一個殺手_{(e)(e)}」, 到「神秘的伊波拉病毒比
SARS 厲害 10 倍_(c)」, 本世紀流感(病毒)可能的大流行, 將是令全球人類最
膽戰心驚的。

於是, 集團依先進的醫學科研機構的陸續設立:「臨床和轉化醫學_{(1c)(2c)(3c)(4e)(5e)(6e)}

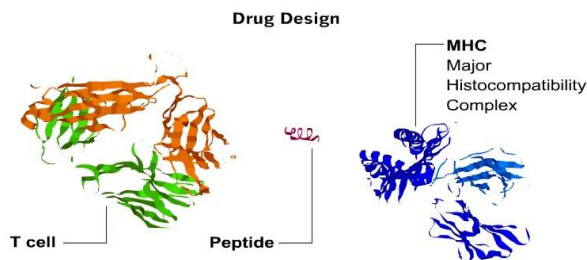


Ebola Virus 伊波拉病毒

研究所臨床研究中心生物營養服務
₍₁₎₍₂₎₍₃₎₍₄₎₍₅₎₍₆₎₍₇₎₍₈₎₍₉₎₍₁₀₎與「全球擁有諾貝爾獎
最多 24 個_(e)的洛克菲勒大學_(c)醫院(轉化
醫學)生物營養部_{(e)(e)}」, 集團(轉化醫學)
生物營養部的「醫師科學家_(c)」專家團隊,
多年「細胞實驗」與揭密「脂筏_{(c)(c)}(Lipid
Raft)」後, 完成美中絕佳高端醫療(聯
合)系統_(c)10. 拐點“全球化 3.0 版醫
學”: 。協助醫院制(藥)劑配製(藥)或調
(藥)劑活動_(c), (1) 研發「細胞分子生物
營養劑_(c)」:「病毒解碼 VirusDecoder」,
解碼伊波拉(埃博拉)病毒, 攻克: 人類
免疫缺陷病毒_(c)(愛滋病 AIDS_(c))、醫院
(院內)感染_{(c)(c)}(耐甲氧西林金黃色葡萄

球菌(MRSA)(c)(c)、耐(抗)萬古黴素腸球菌(VRE)(c)(c)(c)(c)、鏈球菌(c)(c)、炭疽桿菌(c)(c)(炭疽病(c)、肺炭疽(c))、溶血素(c)(c)。依循《耐萬古黴素腸球菌(c)感染防治專家共識》(c)，解決院內感染較難治療(c)(c)(c)的問題：「耐萬古黴素的腸球菌(VRE)是近十幾年出現的院內感染的主要致病菌，腸球菌可在護士及其他醫務人員手分離出，所以醫務人員可能為院內感染的主要傳播者(c)。VRE 83%~91 % 為醫院獲得(c)。耐甲氧西林金黃色葡萄球菌(MRSA)是院內感染和社區感染中常見，致病力強而治療效果差，MRSA 可通過接觸途徑進行擴展，即易感人群從攜帶者的致病原，或感染者身上獲得 MRSA ,導致傳播流行，住院期間長期接受抗生素治療，與 MRSA 攜帶者或患者接觸容易導致 MRSA 院內感染(c)。」，如「出血」與「感染」是造成白血病死亡的原因之一(c)，而不是疾病本身。(2)「HoldCold 病毒失活記(c)」。另同時，(3) 實施 2012 年諾貝爾醫學獎授予(e)：iPSCs(t)，「血流動力學細胞膜的動力傳導 iPSCs」與「雙硫鍵 iPSCs」兩者的結合。

從「1996 年諾貝爾醫學獎授予(ec) 病毒感染的細胞介導免疫(CMI)(療法)」，CMI[(T)細胞(介導)免疫(c)]，在抗病毒感染免疫中，主要參與對胞內寄生的

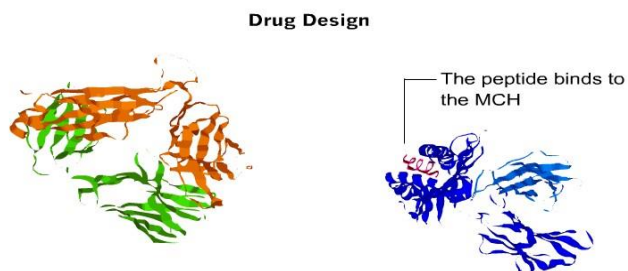


US Oncotherapy Group: Drug Design 1

「病原微生物」及「腫瘤細胞」的免疫應答，參與移植排斥反應及對體液免疫的調節。也可以說，在抗病毒感染免疫中，CMI 既是抗病毒感染免疫的主要力量，參與免疫防護，又是導致免疫病理的重要因素。

而「**CPPs+雙硫鍵**」卻扮演著啟動 CMI 整組免疫系統抗病毒和抗癌效率關鍵組合的「雙開關」：必須由「**CPPs+雙硫鍵**」供應人體抗禦外源物(病毒/細菌/支原體(c)/衣原體(c)/癌細胞)中起著主要(殺手(e))作用的**雙硫鍵多(胜)肽(e)**抗菌肽(c)(Antimicrobial Peptides(e)(e))+防禦素(c)(Defensin(e)(e))，並供應給兩個 **MHC(e)(e)**(主要組織相容性複合體(c)(c))作為 T 細胞「**肽識別證(Peptide Recognition/Identification(e)(e))**」敵我辨識的(神鬼)認證系統，形成整組 CMI

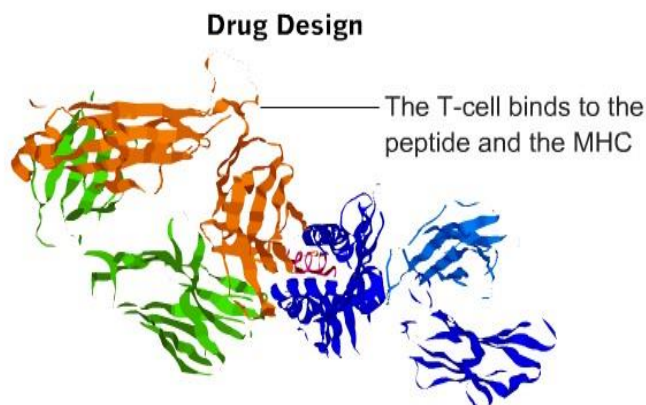
「雙開關」免疫系統抗病毒和抗癌的人類皇家御林軍與作戰特攻隊的聯合軍團：1.「**內源性抗原(c)**：第一型 (MHC I) 做為 CD8+(殺手)T_c(T 淋巴(c))細胞 (胜)肽標記外源物的識別(認證)，再行分泌穿孔素(c)(perforin)以進行溶解/撲殺，消滅外來病原，使外源物(細胞)破裂而死亡，降解病毒蛋白(e)」→ 2.「第二型



US Oncotherapy Group: Drug Design 2

(MHC II)做為雙硫鍵 IL-12 的內源(勝)肽信號以啟動 CD4+T_{h1}(吞噬(c))細胞啟動 CMI 免疫反應，吞噬入侵的外源物(病毒/細菌等微生物)，吞噬物與胞漿內雙硫鍵的溶酶體(c)(e)(e)(溶菌素)融合，形成自噬作用(c)(c)的自噬溶酶體(c)，降解/分解/消化其所包裹的內容物(e) → 3. 「外源性抗原(c)：第二型(MHC II)做為抗原提呈細胞(c)(APC)所提呈的抗原肽過程中，即(巨噬(c))細胞內吞作用(c)(Endocytosis(e))進行病毒/細菌吞食後，再把吐出的病毒/細菌碎片利用 MHC II 結合成複合(物)體，提示給 CD4+T_{h2}(B 淋巴(c))細胞(勝)肽識別(e)(c)(Allorecognition(e)，同種異體識別)，啟動 AMI [抗體(介導)免疫]的「體液免疫」(吞噬、清除)反應」。

「抗體識別(認證)釋放/供應能量(e)」、「半抗原(c)的 T 細胞識別(認證)(e)」、「半抗原(c)的 T 細胞識別(認證)(e)」、「CD8+(殺手)T_c 細胞的有效啟動需要 MHC I 的肽在 T_c 細胞受體上的綁定/結合(e)」、「(e)CD4+T_h 細胞的有效啟動 B cell antibody 需要 MHC II 肽的綁定/結合」。



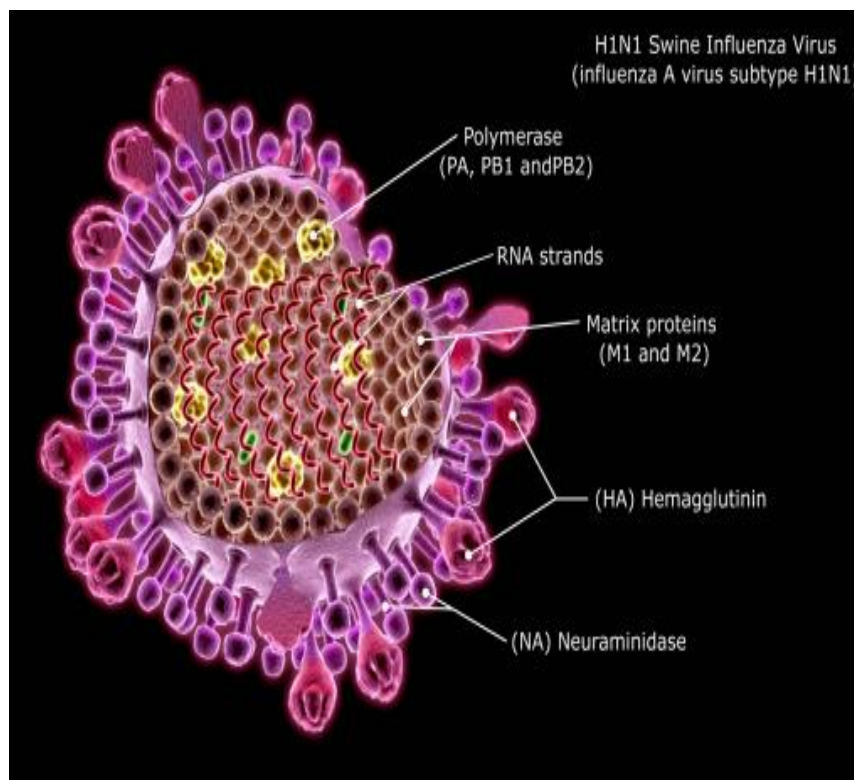
US Oncotherapy Group: Drug Design 3

「T 細胞識別(認證)(流感)病毒血凝素(e)」、「雙硫鍵削弱(流感)病毒血凝素的融合活性(e)(e)，削弱病毒改變構象的能力」：所有病毒的表面都存在兩種蛋白質，一種稱為血凝素(c)(c)是指(紅)血球凝集素(c)(c)(Hemagglutinin)，另一種為神經氨酸酶(Neuraminidase)，高致病性禽流感病毒 H5N1 中的

“H”指代前者，“N”指代後者。病毒表面生成的血凝素，可使病毒融合/捆綁在受感染人的細胞上，是能使入血液裡的紅血球形成凝集的有毒蛋白質。「雙硫鍵組構強大的(人)細胞質(c)，是新型抗病毒藥物的獨特功能(e)」，「而提供一個有利於雙硫鍵組成的本地環境，削弱病毒突變體(e)，必須由強大細胞質(c)積累的雙硫鍵，借力使力的借由病毒編碼的酶催化」。

而必須由雙硫鍵緊密連接 p35 和 p40 兩個基因信號轉導轉錄表達構造的 IL-12(白細胞介素 12)正是 CMI 整組免疫系統發揮效率最重要的組成關鍵元素：「自然殺手細胞刺激因數」，即是「圖解 IL-12(蛋白)結構(e)：是一個用於 CMI 的重要免疫調製器，顯示作為疫苗佐劑和抗癌治療的潛力是顯著的」。

免疫系統攻防團隊的副手，一個輔助性 T 細胞 (CD4+T_h)，有時比主攻擊的殺手 T 細胞 (CD8+T_c) 還好用：例，「急性甲型 (A 型) 肝炎 (病毒) (HAV) 感染的動物免疫力」研究顯示^{(e)(e)}：「在一個輔助性 T 細胞 (CD4+T_h)，不是殺手 T 細胞 (CD8+T_c)，但卻可能是負責清除甲型 (A 型) 肝炎 (病毒) (HAV) 的感染」，似乎是：在停止 HAV 的複製機制上，又不像殺手 T 細胞 (CD8+T_c) 會涉及損肝，CD4+T_h 不涉及損肝且具有更直接的作用。因為，「甲型肝炎病毒 (HAV)」A 型肝炎是由 A 型肝炎病毒引起的一種高度傳染性的肝臟感染，傳統上認為 CD4+T_h 只是在對抗 HAV 感染時協助可能是前線戰士的殺手白血細胞 (CD8+T_c)，結果主攻擊的殺手 T 細胞 (CD8+T_c) 會出手過重傷及自身 (損肝)，而副手 CD4+T_h 卻可慢條斯理不動聲色的收拾敵人 HAV。以前在解決急性 A 型肝炎治療上，不受重視的副手 CD4+T_h，也許在對那些免疫系統較弱的，特別是年輕人和老年人，以及病毒生長和肝病復發的監管上，甚具意義與價值。

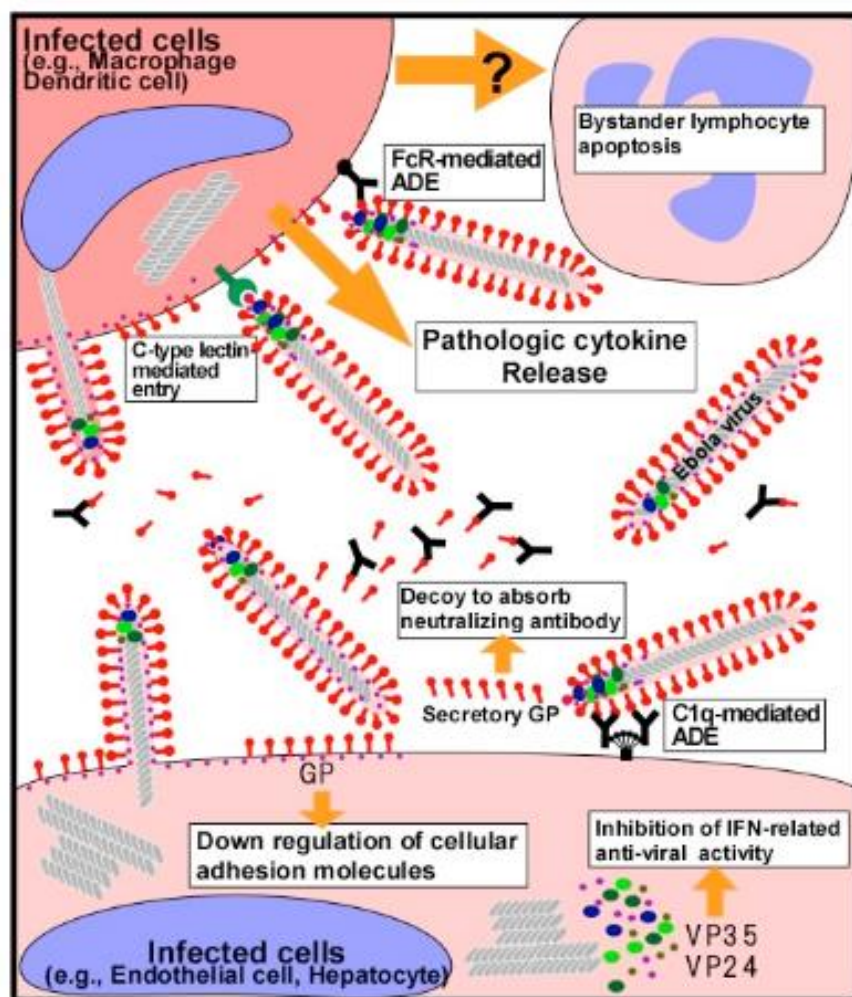


H1N1 禽流感病毒

因此，「病毒解碼」，包含如下的「解碼伊波拉(埃博拉)病毒」，正是 1996 年諾貝爾醫學獎^(e)人類總體免疫系統畢其功於一役的全方位總合成就。

解碼伊波拉(埃博拉)病毒

就從伊波拉(埃博拉)病毒^{(c)(c)(c)(news:c1,c2)}(Ebola Virus^(e))的 7 大「病毒解碼」談起：



Ebola virus pathogenesis and host immunity

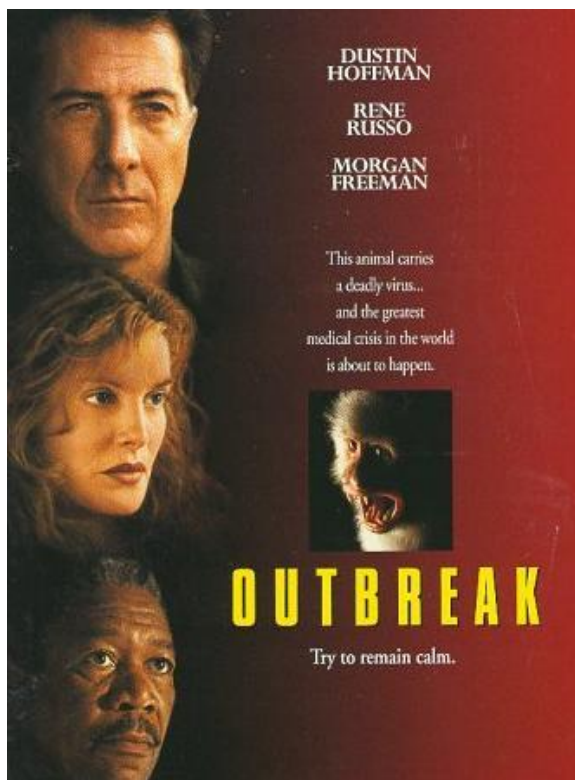
6. 「伊波拉(埃博拉)病毒是如何逃避免疫系統(e)」、
7. 「小分子可以阻止伊波拉(埃博拉)病毒的感染(e)」。

目前它的「世界最致命病毒排行榜(c)」是：第一名，它能使人體內臟破碎，感染者每個毛孔都會往外滲血，高達 90% 的被感染者死亡。美國國家“生物盾牌計畫(Project BioShield(e))”的法案規定，在未來十年內，美國將鼓勵製藥企業研究與開發針對生物恐怖活動的應對措施，加快對包括天花、炭疽病、肉毒桿菌毒素、瘟疫和伊波拉(埃博拉)病毒等解毒藥品的批准過程。

伊波拉(埃博拉)病毒，恐怖壓軸登場，全球聞之色變，它可以在一夕之間造成數百人死亡並讓全球醫生與科學家聞之喪膽的病毒，「俄羅斯生化武器實驗室的女科學家意外被一根沾染伊波拉(埃博拉)病毒的針紮破手而身亡(e)」，其真實情節像極了 1995 年美國為它拍的一部電影：「危機總動員/恐怖地帶/極度恐慌(視頻:1.,2)Outbreak)」。於今對它克制已現曙光，Nature 期

1. 「研究人員發現被伊波拉(埃博拉)病毒使用來打開細胞和傳播致命感染的“關鍵”(e)」、
2. 「科學家發現伊波拉(埃博拉)病毒的關鍵結構(e)」、
3. 「伊波拉(埃博拉)病毒受體的識別(e)(e)」、
4. 「抑制伊波拉(埃博拉)病毒伸(展)出去感染相鄰(近)細胞(e)」、
5. 「揭開伊波拉(埃博拉)病毒入侵細胞的策略(e)」、

刊出現振奮人心的標題(e)(e): **Antisense PMOs protect against Ebola virus** , 而電影中的第一主角「美國陸軍傳染病醫學研究中心(USAMRIID(e)(e))」卻真實的公佈(e)(e)(2012年8月): **Antisense PMOs** 同時成功攻克**伊波拉(埃博拉)病毒**與(其近親)**瑪律堡病毒(c)(c)(e)(Marburg Virus)**。目前**瑪律堡病毒**的「世界最致命病毒排行榜」是: 第三名。



Antisense PMOs , 英文全名: Antisense Phosphorodiamidate Morpholino Oligomers, 是經由前身: Antisense Oligonucleotides (**AOS(e)**) 改良而成的, 兩者為同意譯: 反義寡核苷酸, **PMOs**, 系利用「反義的**肽**識別(認證)(e)(e)(e)」與「反義藥物(c)」(生物)技術(antisense (bio)technology(e)(e), **肽結合肽(e)**)療法(e)的製作而誕生此藥物, 從而保證能重返人類抵禦病毒唯一的決戰場, 即本主題「病毒解碼」的開始: 「1996年諾貝爾醫學獎得主的演講內容(e): 病毒感染的細胞介導免疫(**CMI**)(療法)」, 而反義技術的「**肽結合肽(e)**」才能保證有效益的運行這個 **CMI** 的抗殺病毒系統(如上述第 1,2 段)。

PMOs, 中譯: 磷醯二胺嗎啉代寡核苷酸, 一般簡稱: **嗎啉基(c)/嗎啉代/嗎啉/寡核苷酸(c)**, 就是英文全名的中間字: **Morpholino(e)**, 這個字是從(生物)形態學 **Morphology** 演繹而來。常用簡稱: **嗎啉基(c)/寡核苷酸(c)**, 是對**天然**核苷酸結構重新設計獲得的合成分子, 長度多為 25 個碱基, 以標準核苷酸碱基配對的方式與 **RNA** 互補結合, 通過佔據體內 **mRNA** 與其它分子作用位點來發生作用。「反義技術在新型抗菌藥物研發中的應用(c): 利用反義技術構建敏感菌從**天然**化合物庫中篩選新型抗菌藥物(抗生素耐藥菌株), 採用反義技術抑制耐藥基因的表達從而逆轉耐藥菌對現有抗生素的敏感性」。

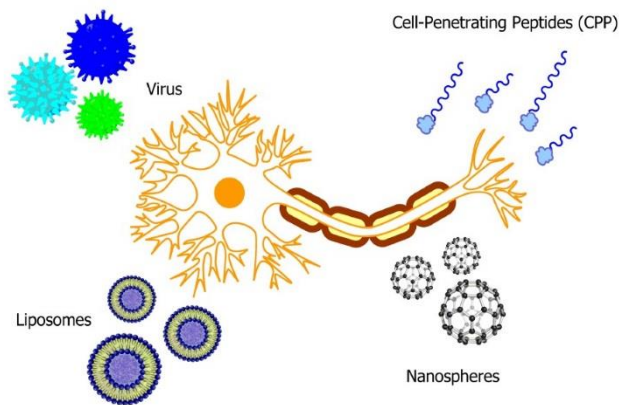
於是就產生: 「基因研究的工具--嗎啉反義寡核苷酸(**PMOs**)(c): **PMOs** 是一種新型反義寡核苷酸, 抑制天然 **RNA** 剪接過程, 產生各種 **mRNA**, 可抑制基因表達, 如抑制原癌基因的表達。**PMOs** 與特異病毒 **mRNA** 結合形成的雙聯物可有效阻斷病毒 **RNA** 轉錄, 抑制病毒複製。此化合物又具有很好的穩定性、溶解度和細胞滲透性, 現已用於病毒感染、癌症、肌營養不良症和早老綜合征治療藥物的研究中。基於反義寡核苷酸的抗**伊波拉病毒**的基因

治療策略絲狀病毒(瑪律堡和伊波拉病毒)在體內迅速抑制宿主免疫反應，產生出血熱，患者死亡率高達 90%」。

從「反義寡核苷酸類藥物及給藥系統的研究(c)」瞭解：由於這類藥物在體內易被酶降解且細胞穿透率較低，臨床應用受限。為了解決這些缺陷，CPPs(細胞穿透肽/穿膜肽)提高穩定性、細胞穿透率，和藥物傳遞系統。「促進細胞穿透肽及其介導的生物分子從內含體逃逸的幾種策略(c)」。

而解碼伊波拉(埃博拉)病毒的關鍵元件，仍然是啟動 CMI 整組免疫系統抗病毒和抗癌效率的關鍵者：CPPs，從(上述)本文最開始的第三段：「CPPs(細胞內傳遞(e))與 Nature 期刊論壇的「藥物傳遞(c)(交付/輸送)」

Strategies for Intracellular Delivery of Therapeutics



US Oncotherapy Group: CPPs Delivery

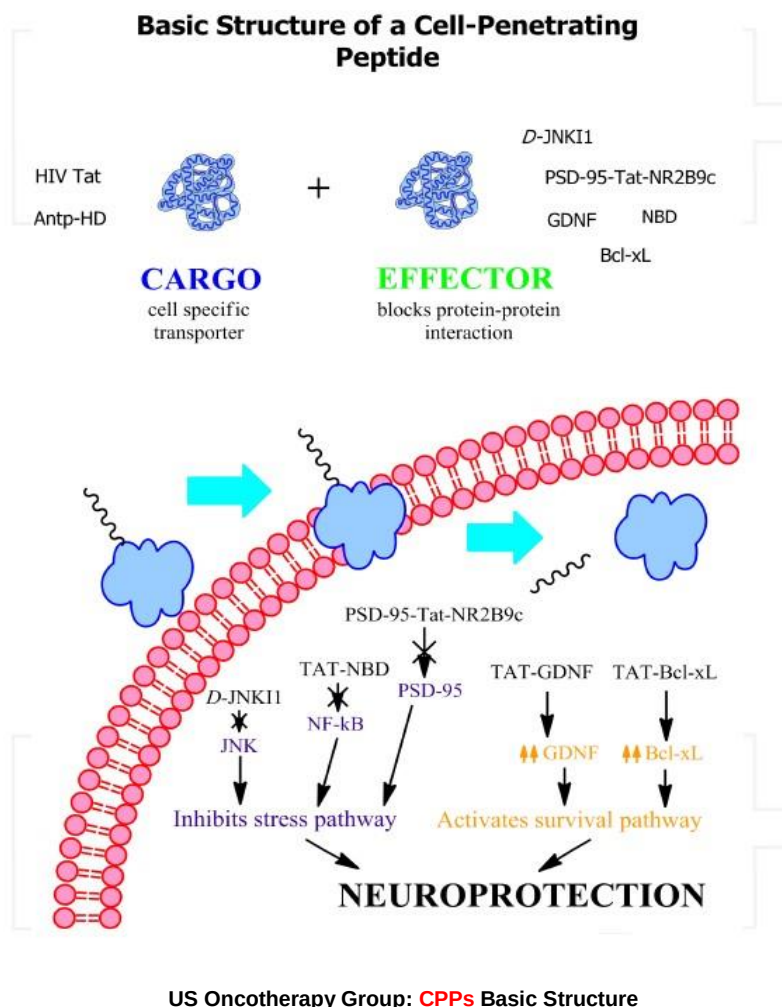
主題出現的標題(e)：「藉由 CPPs (細胞穿透肽)的嗎啉基(c)/寡核苷酸(c)(藥物)傳遞，Morpholino delivery by cell-penetrating peptides (CPPs)」，而結合/綁成一個專有詞：CPP-PMOs(e)(PPMOs)(e)(e)，「CPP-PMOs(PPMOs)殺菌是非常有效的(e)」，「美國陸軍傳染病醫學研究中心(USAMRIID(e)(e))」的研究報告(圖 1 與 0010 頁)顯示/說明(e)：結合肽的 PMOs

(peptide-conjugated PMOs) 即 CPP-PMOs 比沒有結合肽的裸型(naked)PMOs 抑制伊波拉(埃博拉)病毒的效果更好」，「美國陸軍傳染病醫學研究中心(USAMRIID(e)(e))」的另一份研究報告(圖 1 與 2090 頁)顯示/說明(e)：CPP-PMOs(PPMOs)抑制伊波拉(埃博拉)病毒的效果最好：PMOs 經由 CPPs 的結合修正，可以增進/改善反義的效率(Antisense Efficacy)，同時結合後的 CPP-PMOs(PPMOs)完全保護小鼠致命性伊波拉(埃博拉)病毒的挑戰(completely protecting mice following lethal EBOV challenge)」。

因此，抗禦/抑制伊波拉(埃博拉)病毒的效果是：

CPP-PMOs(PPMOs) > Antisense PMOs (PMOs) > Antisense Oligonucleotides (AOs)

CPPs(細胞穿透肽/穿膜肽)除了涵蓋整套免疫系統 T 細胞「肽識別證」敵我辨識的所謂：「神鬼認證」之外，更是涉入整個生命最深層的認證作業系統：



1. 「守恆信號肽識別系統的整個原核(c)領域(e)(e)」
2. 「通過肽識別(認)證系統，中和丙型(C)肝炎病毒的抗原表位元抗體(e)」
3. 「高通量噬菌體識別(認)證系統的綁定(結合)特異性(e)(e)」
4. 「肽識別(認)證系統介導整個真核細胞(c)領域的蛋白相互作用(e)」
5. 「細胞內排序(整理/分類)的小肽識別序

列(e)」

6. 「美國國家衛生研究院細胞與分子免疫學實驗室：在 T 細胞發展(發育)的肽識別(認)證問題(e)」
7. 「CD8+(殺手)T_c細胞的肽識別(認)證(e)(e)」
8. 「CD44(c)的肽識別(認)證問題(e)」
9. 「肽識別(認)證的能量學:(e)血管緊張素 II /抗體的結合(e)」
10. 「肽識別(認)證的能量學:(e)」
11. 「T 細胞受體的肽識別(認)證+能量學整合(e)」
12. 「乳腺癌易感基因的肽識別(認)證(e)(e)(e)」
13. 「人類 1 型糖尿病和胰島素原表位的 T 細胞肽識別(認)證(e)」
14. 「細胞內肽識別(認)證的功能基因組學(e)」。

2012 年諾貝爾化學獎(e): GPCRs(c)(G-蛋白偶聯受體), 人類最大一類的細胞表面受體, 需由肽識別(認)證, 肽的相互作用(e)(e), 而由雙硫鍵組建的結構和功能(e)(e), 介導許多細胞外信號的傳導。

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 94, pp. 14764-14769, December 1997
Microbiology

A system for functional analysis of Ebola virus glycoprotein

AYATO TAKADA^{1,4}, CLINTON ROBINSON⁵, HIDEO GOTO¹, ANTHONY SANCHEZ², K. GOPAL MURTHI^{1,5},
MICHAEL A. WHITT³, AND YOSHIO KAWAKURA^{1,4*}

¹Department of Virology and Molecular Biology, St. Jude Children's Research Hospital, 332 North Lauderdale, P.O. Box 318, Memphis, TN 38103; ²Department of Microbiology, Department of Disease Control, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Sapporo 960, Japan; ³Department of Microbiology and Immunology, University of Tennessee, 855 Madison Avenue, Memphis, TN 38163; ⁴Special Pathogens Branch, Division of Viral and Rickettsial Diseases, National Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA 30333; and ⁵Department of Pathology, University of Tennessee, 800 Madison Avenue, Memphis, TN 38163

Communicated by Paul Almqvist, University of Wisconsin, Madison, WI, October 30, 1997 (received for review July 17, 1997)

ABSTRACT Ebola virus causes hemorrhagic fever in humans and nonhuman primates, resulting in mortality rates of up to 90%. Studies of this virus have been hampered by its extraordinary pathogenicity, which requires biosafety level 4 containment. To circumvent this problem, we developed a novel complementation system for functional analysis of Ebola virus glycoproteins. It relies on a recombinant vesicular stomatitis virus (VSV) that contains the green fluorescent protein gene instead of the receptor-binding G protein gene (VSVΔG⁺). Herein we show that Ebola Reston virus glycoprotein (ResGP) is efficiently incorporated into VSV particles. This recombinant VSV with integrated ResGP (VSVΔG⁺-ResGP) infected primate cells more efficiently than any of the other mammalian or avian cells examined, in a manner consistent with the host range tropism of Ebola virus, whereas VSVΔG⁺ complemented with VSV G protein (VSVΔG⁺-G) efficiently infected the majority of the cells tested. We also tested the utility of this system for investigating the cellular receptors for Ebola virus. Chemical modification of cells to alter their surface proteins markedly reduced their susceptibility to VSVΔG⁺-ResGP but not to VSVΔG⁺-G. These findings suggest that cell surface glycoproteins with N-linked oligosaccharide chains contribute to the entry of Ebola viruses, presumably acting as a specific receptor and/or cofactor for virus entry. Thus, our VSV system should be useful for investigating the functions of glycoproteins from highly pathogenic viruses or those incapable of being cultured *in vitro*.

The family Filoviridae contains Marburg and Ebola viruses, which are filamentous, enveloped, and nonsegmented negative-stranded RNA viruses (1, 2). Both viruses cause severe hemorrhagic disease in humans and nonhuman primates with high mortality rates (1, 2). The Ebola virus group consists of the Zaire and Sudan subtypes, first identified in 1976; Reston, initially isolated from cynomolgus monkeys imported from the Philippines into the United States in 1989; and a strain discovered in the Tai Forest of the Ivory Coast in 1994. The natural reservoir of filoviruses remains elusive.

The filoviruses contain at least seven structural proteins, all of which are translated from monocistronic polyadenylated mRNA transcripts (2-7). The surface glycoprotein (GP) is expressed from the fourth of the seven structural protein genes (3, 6). Because filoviruses contain a single transmembrane GP that forms spikes on the virus surface, the GP is most likely to be responsible for receptor binding and membrane fusion, leading to virus penetration. Filovirus GP is a type I glycoprotein, containing both N-linked and O-linked carbohydrates (2, 8, 9), which contribute to considerably larger molecular

weights than those predicted from deduced amino acid sequences. However, little is known about the biological functions of GP and the other filovirus proteins. Attempts to analyze the structure and biological behavior of the filoviruses have been impeded by the need for biosafety level 4 containment, leading to keen interest in strategies that might circumvent this obstacle.

Vesicular stomatitis virus (VSV), the prototype rhabdovirus, has been used as a model system for studying the replication and assembly of enveloped RNA viruses. It grows in many animal and some insect cells and can be propagated in large quantities. Lawson *et al.* (10) and Whelan *et al.* (11) generated recombinant VSV from plasmids, raising the possibility of its use as a vector to express foreign proteins (12). More recently, Schnell *et al.* (13) reported the incorporation of foreign glycoproteins (i.e., cellular CD4 or measles virus glycoproteins) into VSV particles. In the present study, we generated a recombinant VSV that contains the green fluorescent protein (GFP) gene, instead of the G protein gene, and thus is not infectious unless the envelope protein responsible for receptor binding and membrane fusion is provided *in trans*. We then investigated the potential utility of this novel recombinant VSV in functional analysis of the Ebola virus GP. Herein we report successful complementation of the recombinant VSV with the Ebola Reston GP.

MATERIALS AND METHODS

Plasmids. Full-length cDNAs encoding the Ebola Reston virus glycoprotein (ResGP) (14), VSV G protein (15), and influenza A/turkey/Ireland/1378/83 (H5N8) virus hemagglutinin (16) were cloned into a mammalian expression vector, pCAGGS (17), and designated pCResGP, pCpVSVG, and pCpTH, respectively.

Cells. Vero, BHK, MDCK, and MDBK cells were grown in Eagle's MEM supplemented with 10% fetal calf serum (FCS), L-glutamine (GIBCO/BRL), vitamin and amino acid solutions (GIBCO/BRL), and penicillin-streptomycin solution (Sigma). For J cells, horse serum was used instead of FCS. 3T3, COS-1, NIH 3T3, and Th1u cells were cultured in high glucose DMEM containing 10% FCS, L-glutamine, and antibiotics. Chinese hamster ovary clone 22 cells, provided by E. Ruky (Vanderbilt University) were cultured in Ham's F-12 medium containing 5% FCS, L-glutamine, and antibiotics. DBT cells, a murine astrocytoma cell line, provided by S. Makino (University of Texas), were grown in MEM supplemented with 10% newborn calf serum, tyrosine phosphate

Abbreviations: VSV, vesicular stomatitis virus; GP, glycoprotein; GFP, green fluorescent protein; ResGP, Reston GP; FCS, fetal calf serum.

*To whom reprint requests should be sent at present address: Department of Pathological Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin, 2051 Linden Drive West, Mad.

The publication costs of this article were defrayed in part by page charge payment. This article must therefore be hereby marked "advertisement" in accordance with 18 U.S.C. §1734 solely to indicate this fact.

© 1997 by The National Academy of Sciences 0877-8424/97/9414764-06\$05.00/0

行文至此，「病毒解碼」仍未完結，這時才正好趕上「包含 2012 年諾貝爾化學獎 (e)：GPCRs(上段)的 PPD 分子生醫處方 (c)」揭曉最後真正的王牌：雙硫鍵 (c)(e) 它才是真正的終極王牌，此系為 CPPs 啟動細胞穿透/穩定/有效率的核心理論元件。「CPPs 的傳遞動力學 (e)：CPPs 分子內部結合著雙硫鍵才能成就其基本構造 CPP-S-S-cargo construct」，「細胞表面的硫醇 (e)(e) 影響著雙硫鍵結合肽的 CPPs 進入細胞 (e)：CPPs 的高穩定性與細胞攝取效率有賴於雙硫鍵的存在效果；CPPs 包含雙硫鍵的還原反應，才能導致細胞表面氧化還原的活性」。

這(天然)生物性的 CPPs 被科學家發現于 1988 年，終於可救援/更新/解決上世紀藥物治療效率不高的關鍵盲點，旋即進入本世紀開啟了「藥物傳遞 (c)(c) 的細胞穿透和細胞靶向肽：CPPs 有賴於雙硫鍵兩個硫化基的穩定架橋，才能成就“穿透”的效率，來成就藥效的更新 (e)」。

CPPs，細胞穿透肽，這個名字的完整性是必須依賴雙硫鍵的兩個硫化基構築成像一座橋，在英文裡有另一知名的名稱叫：Disulfide Bridge (CPP-S-S-cargo construct)，直譯成中文叫：二硫化物橋/雙硫橋，CPPs 的肽就是搭上這橋才能從細胞外「穿透」進入細胞內，此時才(誕)生出 (e) 完整/穩定/有效率的 CPPs 服務人類健康，而「雙硫鍵能有效的中和毒素 (e)：抗破傷風毒素」，「在溶酶體 (c) 內雙硫鍵的還原是抗原 (c) 處理的關鍵步驟 (e)(e) 1996 年諾貝爾醫學獎病毒感染的細胞介導免疫 (CMI) (療法)，才能進行到抗原呈遞給 T 細胞，殺死/降解/分解/消化其所包裹的內容物/病原體，消化後的殘渣通過外排作用排出細胞」，於是「CPPs+雙硫鍵」兩者聯手協同增效 (Synergistic Effect)，傳揚本世紀人類醫療治病與健康照護的英雄事蹟：總完成整套免疫系統 T 細胞「肽識別證」敵我辨識的所謂：「神鬼認證」，總成就 1996 年諾貝爾醫學獎 (e) 的病毒感染 CMI (細胞介導免疫)+AMI (抗體介導免疫) 療法，進行石破天驚的解碼伊波拉(埃博拉)病毒，最後為人類完成偉大的「病毒解碼」生物工程。

同時，再附贈人類一個大禮，也成就了人類夢寐以求的 2012 年諾貝爾醫學獎(e)：iPSCs，通過小分子動員組織內靜息的幹細胞，以治癒損傷的組織(c)，開啟了人類生命的新一頁：「幹細胞的再生醫學(c)」劃時代/新紀元的到來。

此時，最後收筆的頃刻間，這偉大的人類天神護法「CPPs+雙硫鍵」，讓吾等想到金庸武俠小說裡的神氣寫照：「武林至尊，寶刀屠龍，號令天下，莫敢不從！倚天不出，誰與爭鋒(c)」。這「CPPs+雙硫鍵」的兩個硫化基像極了倚天劍屠龍刀聯合組成絕世武林的「雙流劍」，嚴密的護守著人類健康，武林至尊，號令天下，即便是全球人類聞之色變最驚恐的伊波拉(埃博拉)病毒仍要俯首稱臣，莫敢不從。

「伊波拉(埃博拉)病毒疫苗」的警訊

Nature 期刊驚人的標題(e)：「免疫系統可以說明伊波拉(埃博拉)病毒感染(Immune system may help Ebola infect)」，即研究證實(e)：「伊波拉(埃博拉)病毒的感染依賴無賴/劣種抗體(Rogue Antibody: C1q)而增強」。美國國家“生物盾計畫(Project BioShield(e))”法案，在 2004 年預算 50 億美元用於購買疫苗，將用於在生物恐怖襲擊事件。

2012 年 10 月 25 日，集團科學家發表本段：「伊波拉(埃博拉)病毒疫苗」的警訊，並相對提出：重新考慮「伊波拉(埃博拉)病毒疫苗」的製作策略。

其實不用驚訝，無賴/劣種抗體(Rogue Antibody)存在人體已久，也惡名昭彰於醫學界，已發現的還真有一些：類風濕因數(c)(RF(e))，免疫球蛋白 E(c)(IgE(e))，細胞膜上的免疫細胞表面蛋白趨化因數 CCR5(c)(e)，補體系統(c)裡的特異份子：C1q(e)，等均是。

Structural Rearrangement of Ebola Virus VP40 Begets Multiple Functions in the Virus Life Cycle

Zachary A. Bornholdt,¹ Takeshi Noda,⁴ Dafna M. Abelson,¹ Peter Haffmann,² Malcolm R. Wood,² Yoshihiro Kawakita,^{4,5,6,7} and Erica Olinstein Spillberg^{1,2}
¹Department of Immunology and Microbial Sciences
²Core Microscopy Facility
³The Scripps Research Institute for Chemical Biology
⁴The Scripps Research Institute, La Jolla, CA 92037, USA
⁵Division of Virology, Department of Microbiology and Immunology
⁶International Research Center for Infectious Diseases
⁷Institute of Medical Science, University of Tokyo, Tokyo 108-8639, Japan
⁸Department of Pathobiological Sciences, School of Veterinary Medicine, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI 53706, USA
⁹Infection-Induced Host Responses Project, Exploratory Research for Advanced Technology, Saitama 332-0012, Japan
¹⁰Correspondence: eric@scripps.edu
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2013.07.015>

SUMMARY

Proteins, particularly viral proteins, can be multifunctional, but the mechanisms behind multifunctionality are not fully understood. Here, we illustrate through multiple crystal structures, biochemistry, and cellular microscopy that VP40 rearranges into different structures, each with a distinct function required for the ebolavirus life cycle. A butterfly-shaped VP40 dimer traffics to the cellular membrane. Once there, electrostatic interactions trigger rearrangement of the polypeptide into a linear hexamer. These hexamers construct a multilayered, filamentous matrix structure that is critical for budding and resembles tomograms of authentic virions. A third structure of VP40, formed by a different rearrangement, is not involved in virus assembly but instead uniquely binds RNA to regulate viral transcription inside infected cells. These results provide a functional model for ebolavirus matrix assembly and the other roles of VP40 in the virus life cycle and demonstrate how a single wild-type, unmodified polypeptide can assemble into different structures for different functions.

INTRODUCTION

Ebolaviruses cause severe hemorrhagic fever with up to 90% lethality and are considered potential bioterror weapons (Beddo et al., 1989; Kuhn, 2006). There are five uniquely distinct ribonucleocapsids, each named after the outbreak location in which they were first discovered. Of these, the two most common are Ebola virus and Sudan virus (Kuhn et al., 2011; Adams et al., 2012). Ebolaviruses encode just seven genes and are distinguished by their pleomorphic filamentous morphology

(Kuhn, 2006). Ebolaviruses assemble and bud from the cell membrane in a process driven by the viral matrix protein VP40 (Harry et al., 2000; Rancourt et al., 2003). VP40 alone is sufficient to assemble and bud filamentous virus-like particles (VLPs) from cells (Gessert and Jahring, 1995; Johnson et al., 2006; Noda et al., 2007).

The first crystal structure of VP40 suggested that this protein is monomeric (Dessen et al., 2000a, 2000b). This structure revealed that VP40 contains distinct N- and C-terminal domains (NTDs and CTDs, respectively), both essential for trafficking to and interaction with the membrane (Harry, 2003; Jasenosky et al., 2007). The limited number of contacts observed between the NTD and CTD suggests that they are primarily connected and could separate to assemble a different structure (Jasenosky et al., 2007a; Gomis-Ruth et al., 2003). Indeed, when VP40 is incubated with RNA and RNA or liposomes, conformational changes occur, and the NTD then drives the assembly of RNA-binding ring structures (Harry, 2008). A crystal structure of a VP40 ring was solved by expressing the VP40 NTD alone. In the structure, eight VP40 NTDs assemble into a ring with each NTD bound to an RNA trinucleotide (Gomis-Ruth et al., 2003).

Currently, the VP40 ring and the interfaces by which it assembles provide the only known structural model of how VP40 might assemble the ebolavirus matrix. However, these rings are observed only in infected cells, not in mature purified ebolaviruses (Gomis-Ruth et al., 2003), suggesting the ring structure is not involved in matrix assembly. Instead, the RNA-binding VP40 rings likely play a critical, but currently undefined role inside the infected cell (Gomis-Ruth et al., 2003; Hoenen et al., 2010).

Despite the wealth of structural and biochemical data, no coherent model exists for how the ebolavirus matrix is assembled. It is currently unclear which structure of VP40 migrates to the cell membrane and how that structure is triggered to further oligomerize into the viral matrix. Although RNA binding by VP40 is critical to the viral life cycle (Hoenen et al., 2005),

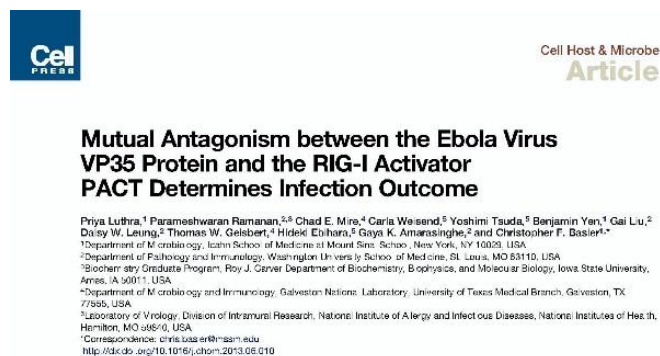


Cell 154, 765–774, August 1st, 2013 ©2013 Elsevier Inc. 765



好像**病毒**都知道人類存在無賴/劣種抗體(Rogue Antibody)的「後門漏洞」,都爭先恐後的從這裡進來:「**C1q** 補體介導的抗體依賴性**增強(ADE)**愛滋病(愛滋病 **AIDS(c)**)(**HIV** 人類免疫缺陷病毒(c))的**感染(e)**」與「細胞膜的結構和功能(e)」圖 7.11(130 頁):「細胞表面(膜)蛋白(c)(c)(Cell Surface Proteins)」,免疫細胞表面蛋白的基因,稱為 **CCR5**,可以幫助愛滋(艾滋)病毒(**HIV**)感染增強,與**伊波拉(埃博拉)病毒**借無賴/劣種抗體 **C1q** 使感染更惡化如出一轍。

既然,無賴/劣種抗體(Rogue Antibody)的存在人體是事實,我們就想辦法阻斷**病毒**使用它的機會與路徑,尤其是:「當病毒促使細胞溶解性的感染時,



會修改細胞膜的通透性(e)」,「**病毒**的滲透會發起細胞表面蛋白的動員令(e)」,「**老化(衰老)**的細胞表面膜促使其膜蛋白質和膜脂橫向流動(e)使細胞膜流動性不正常」會讓**病毒**更好利用無賴/劣種抗體(Rogue Antibody),而且也證實了:「**伊波拉(埃博拉)病毒**的跨膜(糖)蛋白(c)(c)是負責**病毒**包膜與宿主細胞膜受體結合和融合(e)」,「**伊波拉(埃博拉)病毒**利用細胞受體缺陷的識別/驗證進入細胞(e)」,依此清楚的科學發現理路,我們建議:整體**伊波拉(埃博拉)病毒**疫苗(GP-Based Ebola Virus Vaccines)的基底(醣)蛋白

(GP-based)設計策略務必重新思考,必須肩負兼具強化細胞表面膜又稱(細胞)質膜(c)(c)的效能,即肩負兼具改善/提升整體「細胞膜的結構和功能(e)」的效能,細胞表面(膜)蛋白(c)(c)(Cell Surface Proteins)與膜脂在其質膜上的相互作用的強化,將可以援救「**伊波拉(埃博拉)病毒**疫苗」的命運,減弱**病毒**跨膜能力,阻斷**病毒**利用無賴/劣種抗體(Rogue Antibody) 增強感染的機會。或可,仿效下述臺灣:克流感(c),中國:達菲(c),德國研究新型 SARS 病毒,巧妙的善用了造物主賜予人類既是**天然**又是真正有**藥效**的《既是食品又是藥品的物品名單》或其他**天然**的《藥品的物品名單》製作強化性的**伊波拉(埃博拉)病毒**疫苗基底(醣)蛋白(GP-based)。

全球人類必須覺醒

然而，全球人類必須覺醒：當人類生了病，如「營養不良深涉重大慢性生病(c)(t)」，或像「案例：蝦刺亡婦的醫療問題(c)(t)」的婦人(免疫力低下)不幸趕上/遇上/患上了即便不是強勁的病毒/細菌，確實已無法單靠醫療藥物或像「伊波拉(埃博拉)病毒疫苗」，就能醫治的了，更何況當趕上/遇上/患上了強勁的病毒/細菌：SARS、禽流感、人類免疫缺陷病毒(c)(愛滋病 AIDS(c))、醫院(院內)感染(c)(c)[金黃色葡萄球菌(c)(c)、耐(抗)萬古黴素腸球菌(VRE)(c)(c)(c)、鏈球菌(c)(c)、炭疽桿菌(c)(c)(炭疽病(c)、肺炭疽(c))，更是全球醫療藥物所無能為力的，



1918 年全球流感大流行造成約 5000 萬人死亡

醫師只能眼睜睜無奈的看著病人在他眼前死亡。而這全球人類悲哀現象的唯一救贖大逆轉只剩一途：「人類健康共同宣言(c)(t)」，即必須是：宿主，即患者，平時每日生活三餐飲食就得要實行真正有藥效「生活+飲食」「生活方式」的「營養」治病觀念的實踐，當真正趕上/遇上/患上了的時候，患者就可擁有較佳的體質來輔助藥物治病條件所不足的地方，

就像「伊波拉(埃博拉)病毒疫苗」的遺憾，而不是單一賴著醫藥幫你治病或照顧健康，這已是不可能的事實了，這是吾等全球人類必須覺醒的，最後再次回頭看看(c)(t)：吾等有幾人不像「衰老的代謝綜合症」，「營養不良深涉重大慢性生病」，或像「案例：蝦刺亡婦的醫療問題」，尤其再核對一下吾等是否也在下述：人類健康程度每況愈下。

為什麼，人類健康程度每況愈下

人類健康程度如此的每況愈下，患病率如此的普及，其中有一關鍵的助長因素是：「藥物副作用」「吃」出來的體質。

美國華盛頓郵報報導：「處方藥物的傷亡人數是其中最致命的(e)」，每年死於藥物副作用的人數可能會超過死於心臟病、癌症和中風的人數，和可能是大於死於肺病、肺炎或糖尿病的人數。

美國規模最大最詳盡的研究報告顯示(c)(e)(e)：因服用醫師的「正確處方藥」或是「成藥」而發生毒性反應以致嚴重致病者：全美每年有二百萬人以上，此致病比率高達美國醫院病人十五分之一，這當中還未包括「藥物處方錯誤」或「藥物濫用」，另有十萬六千人因「藥物副作用」的毒性反應而喪命，因



1918 年全球流感大流行造成約 5000 萬人死亡

正確使用藥物而引起的「藥物副作用」致死率，名列「美國人口死亡率」的第 4-6 位，其發生率在過去 30 年一直保持穩定。其結論說明：上述郵報報導還是保守估計的。

另外補充：「藥物治療導致重大的發病率和死亡率的不利反應，並可以說明化學(藥)劑誘導免疫介導的藥物不良反應(e)」。「實質上，有超過 80% 以上的藥品不良反應發

生在入院或在醫院與劑量有關的住院病人，尤其是年老體弱的患者(c)」。「藥物的正常代謝卻刺激了敏感體質的個人，導致細胞免疫的高發病率(e)(e)」。

所幸，至少「生物醫學」與「生物科技」研究「病毒解碼」的成就，讓一般社會大眾看得到《既是食品又是藥品的物品名單》就可以吃得到它們的藥效如下多例：

臺灣：克流感(c)，中國：達菲(c)，香港：特敏福(c)，各地中文命名(叫名)不同，中文學名：奧司他韋(c)(Oseltamivir/Tamiflu)，是一種非常有效的流感治療用藥，並且可以大大減少併發症(主要是氣管與支氣管炎、肺炎、咽炎等)的發生和抗生素的使用，因而是目前治療流感的最常用藥物之一，也是公認的抗禽流感、甲型 H1N1 病毒最有效的藥物之一。但是，「吾等這一時代，現代人」誰知，這竟是一般人皆宜膳食(營養)食品用就都很有藥效的《既是食品又是藥品的物品名單》「八角茴香」提取物：莽草酸(c)(c)(Shikimic Acid)是營養「油脂」有機酸所製作，然而幾乎沒有華人婦女不知道八角茴香是中國居家廚房常備的調味料，看看：「八角茴香與達菲(c)」，看看「達菲美國專利號：7473798(e)」的說明：真正的藥效機制來自食品「八角茴香」提取物的莽草酸。

一項發表于國際知名醫學期刊：柳葉刀(the Lancet)，德國研究嚴重急性呼吸綜合征(SARS)新型冠狀病毒稱之為相關性冠狀病毒(SARS-CV)的藥效比較時，竟然是沒有一位中華兒女不知道的**甘草根**，其提取物的「甘草甜素」效果最好(見：甘草甜素(甘草根的有效成分)與 SARS 相關性冠狀病毒複製 (C:中編)(E:原始英文))。

其他如：茯苓多糖體外抗愛滋病病毒作用研究(c)，絲瓜提取物的抗乙型肝炎病毒感染作用(c)，大蒜對 HIV 等病毒作用的實驗研究(c)，葡萄抗乙型肝炎病毒作用及其機制研究(c)，其他如下，...

值得注意的是：**變種禽流感**，研究發現(c)：將禽流感(c)(AIV)改造後的 H5N1 型病毒(c)(c)同 2009 年引發全球流感大流行的 H1N1 型病毒(c)(c)進行混合的新混合病毒，能夠通過空氣進行傳播。部分中東 H5N1 型病毒只需再經歷一次基因變異，就能夠在人類之間進行傳播。“**血凝素**需要在穩定的狀態下才能通過空氣在人類之間進行傳播，這是一個非常重要的發現”。看來「生物醫學」+「生物科技」的結合成就，無時無刻要與病毒的功力精進相抗衡，必須時時刻刻再精進努力著。

從「一滴油的處方(繁體)(簡體)」到「一口飯的處方(繁體)(簡體)」，集團揭曉「**癌症根本治療(c)**」，救援「生活方式病(c)」，成就**健康中國2020(c)**“**人人健康**”的**中國夢(c)**：免於「21世紀中國人是**東亞病夫(c)**」。

這是一個「**醫師科學家(c)**」以「**系統生物醫學**」的「**分析與整合(c)**」
臨床**轉化醫學生物營養(c)**看病的「**病因**」根本治病時代。

系統生物醫學，既是分析亦是整合，是分析和整合的結合，是 21 世紀新興的生物醫學。它既是方向，亦是道路。分析和資料是基礎，整合和系統是核心，交叉和融合是關鍵，模型和干預是工具，知識和預測是方向，轉化和服務是目的。人體的結構和功能，疾病與防治都是一個複雜的體系。只有在不同層次和水準上，不斷進行分析和整合才能揭示生命的奧秘，瞭解疾病的發病機理，尋找到防治疾病的途徑和方法。它是揭示生命本質，防治疾病的一條必經之路，一條「**唯一**」根本途徑。

(繁體)(簡體)

contact@cytothesis.us

「**醫師科學家**」開啟 21 世紀「**健康生命**」

生物動力傳導力醫學轉化實施 (e)(e)(e)

生物「**營養醫學(c)(c)(e)(e)**」決戰「中國抗生素視頻(1)(2)(3)」