

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.18.011

植物多酚对 5 型腺病毒感染后宿主细胞膜流动性的影响

杨 益 苏文莉 孙走南 唐 玥 李瑾慧 刘京梅[△] 常国辉[△] 黄留玉[△]

(解放军疾病预防控制中心 北京 100071)

摘要 目的:观察两种植物多酚 EGCG(表没食子儿茶素没食子酸酯)、单宁酸对 5 型腺病毒感染后宿主细胞膜流动性的影响,初步探讨植物多酚抑制病毒作用机制。**方法:**利用 DPH 为荧光探针,以荧光偏振法观察 5 型腺病毒感染对宿主细胞膜流动性的影响,EGCG、单宁酸在此过程中对宿主细胞膜流动性改变的干预作用,结合 CPE 法测定的 EGCG、单宁酸抑制 5 型腺病毒感染药效试验结果,以 Spearman 秩相关计算 EGCG、单宁酸对宿主细胞膜流动性干预作用与其抑制病毒感染作用间的关系。**结果:**腺病毒感染细胞可提高宿主细胞膜流动性,滴度为 100TCID₅₀ 病毒可使 293A 细胞膜流动性提高 15.34%。EGCG、单宁酸可抑制宿主细胞膜流动性,高浓度下分别可使宿主细胞膜流动性下降 32.61%、25.75%。在病毒吸附前、吸附后、吸附同时,以 EGCG、单宁酸处理宿主细胞,均发现宿主细胞膜流动性的干预作用与其抑制病毒感染效果高度相关(相关系数均 >0.900, P<0.01)。**结论:**5 型腺病毒感染会提高宿主细胞膜的流动性,而 EGCG、单宁酸在干预腺病毒感染过程中对宿主细胞膜流动性的干预作用可能是其抑制腺病毒感染的机制之一。

关键词:EGCG;单宁酸;细胞膜流动性;腺病毒;DPH

中图分类号:Q241;R511.8;R-33 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)18-3443-05

Effect of Plant Polyphenols on the Membrane Fluidity of 293a Cells Infected by Adenovirus-5

YANG Yi, SU Wen-li, SUN Zou-nan, TANG Yue, LI Jin-hui, LIU Jing-me[△], CHANG Guo-hui[△], HUANG Liu-yu[△]

(Institute of Disease Control and Prevention, Academy of Military Medical Science, Beijing, 100071, China)

ABSTRACT Objective: To analyze the effect of two kinds of plant polyphenols: EGCG ((-)-epigallocatechin gallate) and Tannins on the membrane fluidity of 293A cells infected by adenovirus-5 and explore the mechanism of its antiviral activity. **Methods:** The membrane phospholipid of 293A was labeled with DPH. The changes of membrane fluidity were examined by fluorescence polarization experiment. The anti-viral effect of EGCG and Tannins was examined by CPE assay. The correlation of these polyphenols on membrane fluidity and anti-viral effect was analyzed by Spearman rank correlation analysis. **Results:** The membrane fluidity of 293a cells increased significantly after adenovirus-5 infection, with 15.34% decreased by 100TCID₅₀ virus titer. When the cell treated with EGCG and Tannins, the membrane fluidity decreased significantly, in the case of EGCG induced 32.61% decrease of membrane fluidity with high-concentration (640 μg/ML) and Tanins induce 25.75%. The tested polyphenol was included in the periods of pre-infection, adsorption, and post-infection, the effect of these polyphenols on membrane fluidity was highly correlated with their anti-viral effect. (R>0.900, P<0.01). **Conclusion:** The anti-viral capacity of EGCG and Tannins is due to their intervention effect on the membrane fluidity of 293A cells infected by adenovirus-5, which may be one of the mechanisms explaining its anti-adenovirus activity.

Key words: EGCG; Tannis; The membrane fluidity; Adenovirus; DPH

Chinese Library Classification(CLC): Q241; R511.8; R-33 **Document code :** A

Article ID: 1673-6273(2015)18-3443-05

前言

植物多酚类物质被称为“第七类营养素”,广泛存在于日常食物中,是分子结构中有若干个酚性羟基的植物成分的总称,包括黄酮类、单宁类、酚酸类以及花色苷类等。在病毒耐药

性不断增加的今天,多酚类物质作为新型病毒抑制剂,其广谱低毒的特性备受关注^[1,2]。

表没食子儿茶素没食子酸酯(简称 EGCG),是从茶叶中分离得到的儿茶素类单体,是茶多酚生物活性的主要成份。分子式: C₂₂H₁₈O₁₁,分子量:458.4,单宁酸存在于多种树木(如橡树和漆树)的树皮的果实中分子式: C₇₆H₅₂O₄₆,分子量:1701.20,是近年来植物多酚抗病毒研究中的热点^[3,4]。

多酚类植物化合物的生物学效应可能与其对细胞膜生物学特性影响相关,研究表明,部分植物化合物可嵌入细胞膜脂质双层结构^[5],影响细胞膜生物学特性,而不是直接被内吞入细胞内发挥效应。病毒作为专性寄生细胞生物,细胞膜是病毒侵入细胞,完成增殖周期的第一道屏障。从宿主细胞角度,多酚类

作者简介:杨益(1986-),男,硕士研究生,主要研究方向:植物多酚抗病毒研究,E-mail:476762728@qq.com

[△]通讯作者:黄留玉,男,研究员,博士生导师,

E-mail:huangliuyuly@163.com;

刘京梅,女,副研究员,E-mail:amy_l@163.com;

常国辉,男,副研究员,E-mail:chang_7@163.com

(收稿日期:2014-12-12 接受日期:2015-01-05)

植物化合物对脂质双层结构流动性的影响,是否拮抗了病毒对细胞膜流动性效应,是否是多酚类植物化合物相对广谱抑制病毒活性的机制之一。目前,此类研究较少。

1 材料和方法

1.1 细胞株、病毒株

人胚肾细胞株(293A 细胞),购自英国布里斯托大学,本实验室传代后使用。病毒株,人 5 型腺病毒(Ad5)购自英国布里斯托大学,本实验室传代后使用。

1.2 主要药品

植物多酚:表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG),购自 Sigma 公司,(分析纯度 >95%),单宁酸(Tannins)购自 Sigma 公司,(分析纯度 >99%)。阳性对照药物:利巴韦林(Ribavirin),购自美仑生物,因目前并无通过改变宿主细胞膜流动性的标准阳性对照药物,本研究以抗腺病毒最常用药物利巴韦林作为阳性对照药物。

1.3 实验试剂与仪器

荧光探针:1,6-二苯基-1,3,5-己三烯(1,6-diPhenyl-1,3,5-hexatriene DPH),购自美国 sigma 公司。用四氢呋喃配成 $2 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 母液,避光保存于 4°C ,临用前用 PBS 稀释。细胞培养液:10%小牛血清,0.2 mg/mL 谷氨酰胺,100 U/mL 青链霉素的 DMEM 高糖培养基(购自 Glibo 公司),细胞维持液,除所含小牛血清为 2%外,其余含量均相同。SpectraMax M5 多功能酶标仪,购自美国美谷分子仪器公司。5430R 离心机,购自德国 Eppendorf 公司。

1.4 实验方法

1.4.1 细胞毒性实验 将 EGCG,单宁酸,利巴韦林配制成浓度分别为 $20 \mu\text{g/mL}$, $40 \mu\text{g/mL}$, $80 \mu\text{g/mL}$, $160 \mu\text{g/mL}$, $320 \mu\text{g/mL}$, $640 \mu\text{g/mL}$, $1280 \mu\text{g/mL}$ 。加入已长成单层的 293A 细胞培养板中, $100 \mu\text{L}/\text{孔}$,每个稀释度做 4 个复孔,同时设正常细胞对照,作用 2 h 后,弃受试液,加入 2%细胞维持培养基,每孔 $200 \mu\text{L}$,将培养板置于 37°C , 5% CO_2 培养箱中培养,48 h 后,每孔中加入 0.1%中性红 $25 \mu\text{L}$,于 37°C 放置 1.5 h 将每孔中的液体吸出,用 PBS 洗 2 次。加醋酸乙醇,每孔 $100 \mu\text{L}$,且设空白对照,用酶标仪在 492 nm 处测定 OD 值计算细胞存活率,公式如下:

细胞存活率 = (试验孔的平均 OD 值 / 正常细胞对照孔的平均 OD 值) $\times 100\%$ 。

每组实验重复 3 次。

1.4.2 病毒感染对宿主细胞膜流动性的影响 取单细胞悬液 0.5 mL 加入 0.5 mL 病毒液,使每组细胞终浓度为 2×10^6 个/mL,病毒滴度终浓度分别为 0.1 TCID₅₀, 1 TCID₅₀, 10 TCID₅₀, 100 TCID₅₀, 每组 3 管,充分吹打,置 37°C , 5% CO_2 培养箱中吸附 1 h, 每 15 min 摇动,混匀一次。离心 (1000 rpm, 5 min), 弃上清, PBS 洗涤一遍,离心 (1000 rpm, 5 min), 弃上清。加入终浓度为 $2 \times 10^{-6} \mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ DPH (PBS 稀释) 1 mL, 37°C 孵育 15 min 后,于激发波长 365 nm,吸收波长 430 nm 测定荧光各向异性(r),荧光各向异性改变程度 er。DPH 被认为是用于研究膜脂流动性的一种比较敏感的荧光探针,因其可以结合在膜脂的非极性烃链区^[6]。可通过荧光偏振技术,应用 DPH 检测

细胞膜荧光各向异性(r),细胞膜荧光各向异性 r 与细胞膜流动性成反比^[7],在近年来的研究中,细胞膜荧光各向异性的改变率常作为检测细胞膜流动性的间接指标。荧光各向异性越高,细胞膜流动性越低,反之,越高。r 值计算公式^[8]如下:

$$r = \frac{I_{VV} - G \cdot I_{VH}}{I_{VV} + 2 \cdot G \cdot I_{VH}}$$

$G = I_{HV}/I_{HH}$ 为仪器光栅校正因子, 本研究所用 Spractram M5 型酶标仪 $G = 1.076$, I_{VV} 和 I_{VH} 是激发光为垂直方向的偏振光,而发射光分别为垂直和水平方向的偏振光时测得的荧光强度, I_{HV} 和 I_{HH} 是激发光为水平方向的偏振光,而发射光分别为垂直和水平方向的偏振光时测得的荧光强度。

荧光各向异性改变程度 er 计算公式^[7,9]如下:

$$e_r(\%) = 100 \cdot \left(\frac{r_i}{r_c} - 1 \right)$$

其中 r_i 为所测样品荧光各向异性, r_c 为对照样本荧光各向异性(本研究中对照样本为未做任何处理的正常细胞)。

1.4.3 植物多酚对宿主细胞膜流动性的影响 取单细胞悬液 0.5 mL 加入 0.5 mL 各浓度 EGCG 或单宁酸溶液,使每组细胞终浓度为 2×10^6 个/mL, EGCG 或单宁酸终浓度分别为: $10 \mu\text{g/mL}$, $20 \mu\text{g/mL}$, $40 \mu\text{g/mL}$, $80 \mu\text{g/mL}$, $160 \mu\text{g/mL}$, $320 \mu\text{g/mL}$, $640 \mu\text{g/mL}$, 每组 3 管,置 37°C , 5% CO_2 培养箱中吸附 1 h, 每 15 min 摇动,混匀一次。离心 (1000 rpm, 5 min), 弃上清, PBS 洗涤一遍,离心 (1000 rpm, 5 min), 弃上清,加入终浓度为 $2 \times 10^{-6} \mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ DPH (PBS 稀释) 1 mL, 37°C 孵育 15 min 后测定荧光各向异性(r),荧光各向异性改变程度 e_r 。

1.4.4 植物多酚抑制病毒感染实验 (CPE 法) 取已长成单层的细胞培养板,倒掉培养液,用 PBS 冲洗细胞面 3 遍后,分别于病毒吸附前,吸附同时,吸附后,使用受试物干扰病毒感染细胞:(1)吸附前:每孔加入相应稀释度的受试物溶液 $100 \mu\text{L}$,弃受试物溶液, PBS 冲洗细胞面 3 遍后,加入 100 TCID_{50} 的病毒液 $100 \mu\text{L}$,置 37°C , 5% CO_2 培养箱中吸附 1 h 后弃病毒液。PBS 冲洗细胞面 3 遍后,加入细胞维持培养基。(2)吸附同时:将等体积的 $2 \times 100 \text{ TCID}_{50}$ 病毒液与 2 倍浓度的受试物溶液混合后,于细胞培养板中加入混合液 $100 \mu\text{L}/\text{孔}$,置 37°C , 5% CO_2 培养箱中吸附 1 h 后弃混合液。PBS 冲洗细胞面 3 遍后,加入细胞维持培养基。(3)吸附后: 100 TCID_{50} 的病毒液 $100 \mu\text{L}/\text{孔}$,置 37°C , 5% CO_2 培养箱中吸附 1 h 后弃病毒液,加入相应稀释度的受试物溶液 $100 \mu\text{L}/\text{孔}$,弃受试物溶液,置 37°C , 5% CO_2 培养箱中吸附 1 h 后弃病毒液。PBS 冲洗细胞面 3 遍后,加入细胞维持培养基。每组实验设置空白对照与阳性对照组,置 37°C , 5% CO_2 培养箱中培养,每日倒置显微镜下观察细胞病变情况,当病毒对照组细胞病变为 "++++" 时记录实验结果。

1.4.5 植物多酚干扰病毒感染细胞过程中,对细胞膜流动性的影响 以 100 TCID_{50} 病毒液感染正常细胞作为阴性对照,采用同抑制病毒感染实验方法三种方式使用植物多酚干扰病毒感染细胞后,加入终浓度为 $2 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{mL}^{-1}$ DPH 1 mL, 37°C 孵育 15 min 后,测定荧光各向异性(r),荧光各向异性改变程度 e_r 。

1.5 统计学处理

本实验数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 SPSS 17.0

统计软件运用单因素水平方差分析的方法对组间比较数据进行统计处理。令 $\alpha=0.05$ 。P<0.05 认为差异有统计学意义,相关性分析运用 Spearman 双变量等级相关分析,令相关系数 $R>0.900$,P<0.05 认为双变量具有相关性。

2 结果

2.1 EGCG,单宁酸对 293A 细胞毒性

EGCG,单宁酸对 293A 细胞的 TC₀ 分别为 640 $\mu\text{g/mL}$, 1280 $\mu\text{g/mL}$, 阳性对照药物利巴韦林对 293A 细胞 TC₀ 为 640 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.2 五型腺病毒感染对宿主细胞膜流动性的影响

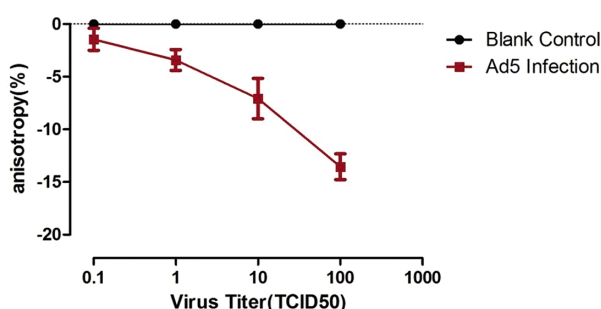


图 1 五型腺病毒感染对宿主细胞荧光各向异性的影响(空白对照:正常细胞)

Fig. 1 Adenovirus-5 infected on the membrane anisotropy of 293a cells (Blank Control:normal cells)

2.4 植物多酚干扰病毒感染细胞过程中,对细胞膜流动性的干预作用

2.4.1 不同方式下植物多酚抑制病毒感染效果 EGCG,单宁酸以三种方式干预腺病毒感染时,均可抑制腺病毒感染,以病

腺病毒感染细胞可降低宿主细胞膜荧光各向异性,提高膜流动性。0.1 TCID₅₀, 1 TCID₅₀, 10 TCID₅₀, 100 TCID₅₀ 分别比正常细胞细胞膜荧光各向异性提高 1.45%, 3.41%, 7.07%, 13.55% (图 1)。

2.3 植物多酚对宿主细胞膜流动性的影响

EGCG,单宁酸可提高宿主细胞膜荧光各向异性,降低膜流动性。10 $\mu\text{g/mL}$ ~640 $\mu\text{g/mL}$ 分别可提高 2.27%~32.61%, 2.13%~25.75%, 各浓度下均高于正常细胞 (P<0.05), 于 320 $\mu\text{g/mL}$, 640 $\mu\text{g/mL}$, 宿主细胞膜荧光各向异性改变率均高于利巴韦林(P<0.05)(图 2)。

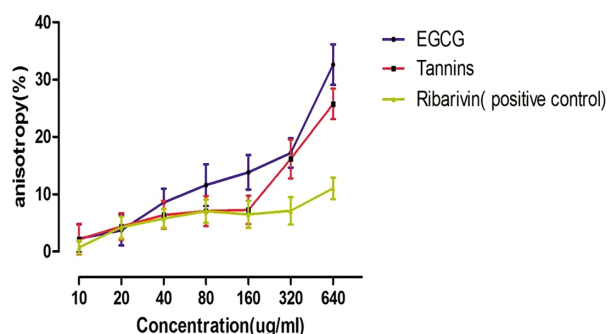


图 2 植物多酚对宿主细胞膜荧光各向异性的影响

Fig. 2 Plant polyphenols effects on the membrane anisotropy of 293a cells

毒吸附前加入与病毒吸附同时加入这两种方式效果,半数抑制腺病毒感染浓度均低于利巴韦林(P<0.05)(表 1)。不同干预方式下各浓度下抑制病毒感染率如图 3,(其中 A,B,C 分别表示于吸附同时,病毒吸附前,吸附后干预腺病毒吸附)。

表 1 EGCG,单宁酸,利巴韦林半数抑制病毒感染浓度(IC₅₀)

Table 1 The anti-viral effect of EGCG, Tannind and Ribavirin express by 50% inhibitor concentration

Drug	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)		
	Adsorption	Pre-infection	Post-infection
EGCG	607 $\pm$ 29	162 $\pm$ 11	325 $\pm$ 26
Tannin	197 $\pm$ 19	303 $\pm$ 47	400 $\pm$ 40
Ribavirin	561 $\pm$ 52	704 $\pm$ 25	177 $\pm$ 27

2.4.2 植物多酚干扰病毒感染细胞过程中,对细胞膜流动性的干预作用 只以 100 TCID₅₀ 感染正常细胞时,宿主细胞膜荧光各向异性降低 13.55%,膜流动性提高。而以 EGCG,单宁酸以三种方式干预腺病毒感染时,各浓度下宿主细胞膜荧光各向异性均有所提高(P<0.05),膜流动性降低。(图 4),(其中 A,B,C 分别表示于吸附同时,病毒吸附前,吸附后使用干预腺病毒吸附,D 表示只以 100 TCID₅₀ 感染正常细胞)

2.4.3 植物多酚干预病毒感染细胞过程中,对宿主细胞膜流动性影响作用与其抑制病毒感染作用相关性分析 根据 2.3.1,2.3.2 实验结果,以 Spearman 双变量等级相关分析,分别分析药物抑制病毒感染率与其对宿主细胞膜荧光各向异性改变率的相关性。

EGCG,单宁酸以三种方式干预腺病毒感染时,对病毒感染细胞各环节细胞膜流动性干预作用与其抑制病毒感染作用成正相关,相关系数均 $R>0.900$,P<0.05,利巴韦林这两种效应无相关关系($R<0.900$,P>0.05)。EGCG,单宁酸于病毒吸附前处理细胞,相关系数 R 高于其余两种方式干预病毒感染。

3 讨论

病毒受体是能特异性地与病毒结合、介导病毒侵入并促进病毒感染的宿主细胞膜组分,大多数为膜蛋白分子。病毒通过与病毒受体结合而吸附于细胞表面。病毒与受体结合初期,受体分子在细胞膜上重排,通过膜脂质双层的流动由细胞受体单位(CRU)聚集成细胞受体位点(CRS),从而与病毒多价结合^[10]。

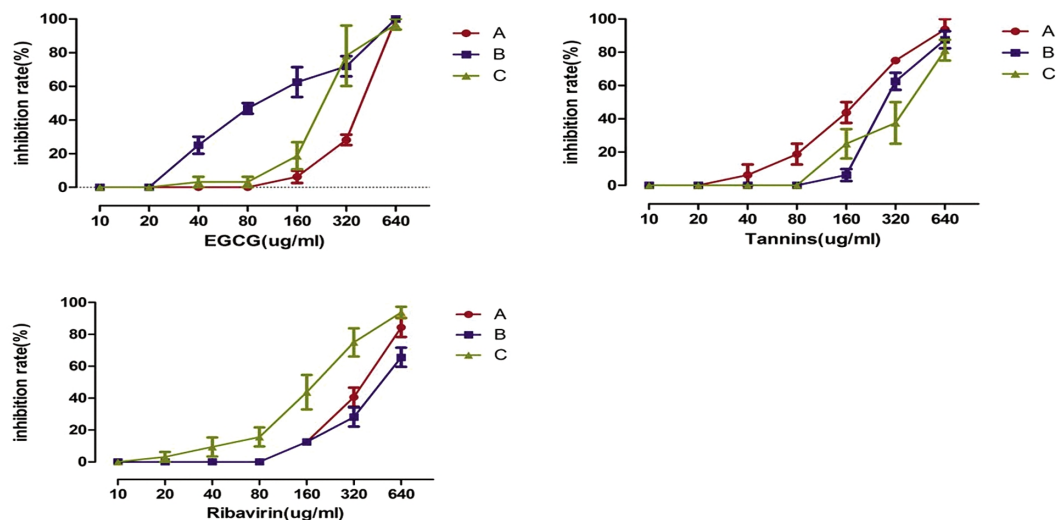


图 3 植物多酚不同浓度下抑制病毒感染效果

Fig.3 Concentration dependency of inhibition effects of plant polyphenols on adenovirus-5 virus

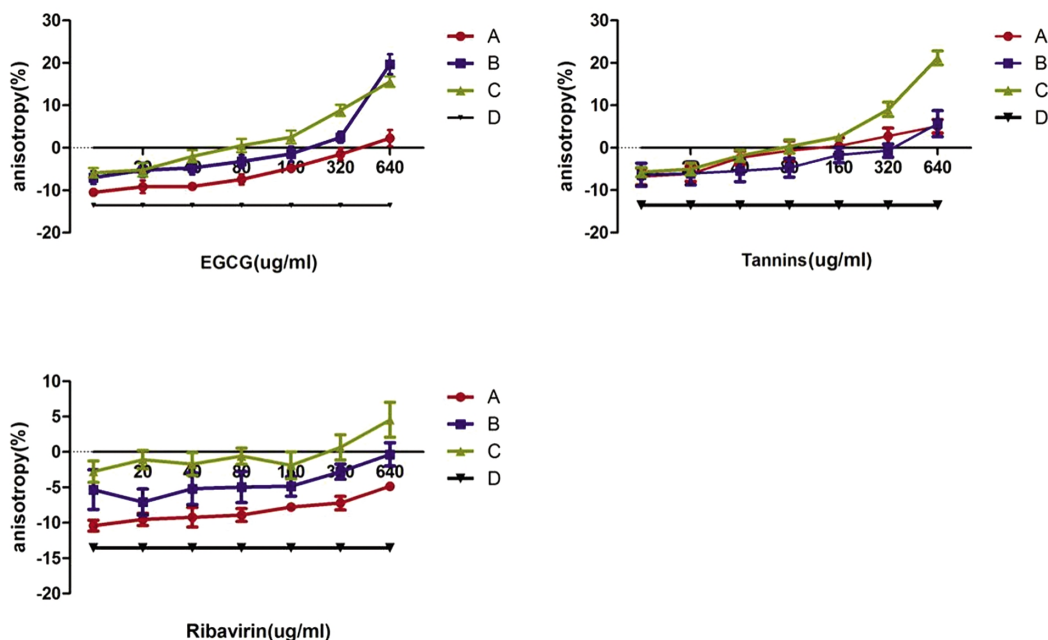


图 4 植物多酚干扰病毒感染细胞过程中,对细胞膜荧光各向异性的干预作用

Fig.4 The interference effect of these plant polyphenols on the membrane anisotropy in the process of adenovirus-5 infecting

表 2 植物多酚干预病毒感染细胞过程中,对宿主细胞膜流动性影响作用与其抑制病毒感染作用相关性分析

Table 2 The correlation analysis of these plant polyphenols' interference effect on the membrane anisotropy and anti-viral effect in the process of adenovirus-5 infecting 293A cells

Drug	Spearman rank correlation		
	Adsorption	Pre-infection	Post-infection
EGCG	0.906*	0.991*	0.932*
Tannin	0.937*	0.989*	0.924*
Ribavirin	0.806	0.842	0.750

Note: *P<0.05.

^[11]。由于膜脂分子和膜蛋白分子之间的疏水相互作用,膜脂流动性和膜受体活动性密切相关^[12],因此细胞膜脂质双层结构的流动性越高,受体位点形成效率越高。而在近年来发现某些病毒感染可使宿主细胞膜流动性提高。如日本脑炎病毒可通过病毒

粒子表面非结构性蛋白活化作用可通过提高宿主细胞膜流动性^[13]。而 Freeman 等则研究发现冠状病毒粒子与受体结合后可提高宿主细胞膜流动性并诱导宿主细胞连续的"巨胞饮",促进病毒粒子内化^[14]。病毒主动诱导宿主细胞膜流动性提高,利

于病毒粒子吸附与内化,可能是病毒侵入宿主细胞膜机制之一^[15]。本研究中,我们应用荧光偏振光技术,发现五型腺病毒感染293a细胞,可明显提高宿主细胞膜脂质双层结构的流动性,在国内外未见此报道。但本研究中,毒株较为单一,在今后的研究中,可继续以多种病毒毒株作为研究对象,进行深入探讨。

本研究发现,与病毒感染,使宿主细胞膜流动性提高不同的是,EGCG与单宁酸可下调宿主细胞膜流动性。可能与EGCG,单宁酸结构特点有关。作为植物多酚类物质,结构特点是具有多个酚性羟基与氢键^[16],这些酚性羟基可嵌入细胞膜脂质双层结构疏水层,氢键可附着于细胞膜表面,牢固附着于细胞膜脂质双层结构中,阻碍了膜脂质的流动性,运动减慢^[16, 17]。近年来,植物多酚被证明具有一定广谱抑制病毒感染的特性^[18],可能正是其对病毒感染对宿主细胞膜流动性影响的拮抗作用,减慢了细胞膜脂质双层结构的流动性,为进一步探索植物多酚抑制病毒感染作用与抑制细胞膜流动性作用的相关性。我们进一步应用EGCG,单宁酸以不同方式干预病毒感染后,分别检测宿主细胞膜脂质双层结构荧光各异性改变率与其抑制病毒感染率,以sperman秩相关计算相关系数。结果显示EGCG,单宁酸于病毒吸附前,病毒吸附同时,病毒吸附后,对宿主细胞膜流动性的干预作用与其抑制病毒感染作用在病毒感染细胞高度相关,EGCG,单宁酸在干预病毒感染过程中对宿主细胞膜流动性的干预作用可能是其抑制病毒感染的机制之一。本研究发现以EGCG,单宁酸于病毒吸附前处理细胞,相关系数R高于其余两种方式干预病毒感染。可能是由于EGCG,单宁酸嵌入宿主细胞膜后,大量有机物基团可覆盖于细胞膜表面,不仅降低了细胞膜流动性,同时也保护细胞膜,免受病毒感染所带来的损伤^[19],在一些研究中,也发现,使用EGCG预处理细胞,可减小病毒感染带来的自由基对宿主细胞的损伤作用^[20]。植物多酚分为酚酸,水解单宁,类黄酮,原花青素四大类物质^[21]。本研究中,EGCG为酚酸类植物多酚,单宁酸为水解单宁类植物多酚,在今后的研究工作中,将对其余两种植物多酚类代表物质相关作用进行初步探讨。

总之,细胞膜的流动状态影响病毒粒子的吸附与内化,腺病毒感染可促进细胞膜流动性以利于腺病毒吸附与内化,而植物多酚则可通过干预病毒感染过程中对宿主细胞膜流动性的干预,抑制腺病毒感染。

参考文献(References)

- [1] Kanwar J, Taskeen M, Mohammad I, et al. Recent advances on tea polyphenols[J]. Front Biosci (Elite Ed), 2012, 4: 111-131
- [2] Zhao C, Liu S, Li C, et al. In vitro evaluation of the antiviral activity of the synthetic epigallocatechin gallate analog-epigallocatechin gallate (EGCG) palmitate against porcine reproductive and respiratory syndrome virus[J]. Viruses, 2014, 6(2): 938-950
- [3] Ueda K, Kawabata R, Irie T, et al. Inactivation of pathogenic viruses by plant-derived tannins: strong effects of extracts from persimmon (Diospyros kaki) on a broad range of viruses [J]. PLoS One, 2013, 8(1): e55343
- [4] Theisen L L, Erdelmeier C A, Spoden G A, et al. Tannins from Hamamelis virginiana bark extract: characterization and improvement of the antiviral efficacy against influenza A virus and human papillomavirus[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e88062
- [5] Abram V, Berlec B, Ota A, et al. Effect of flavonoid structure on the fluidity of model lipid membranes [J]. Food Chem, 2013, 139(1-4): 804-813
- [6] Margina D, Ilie M, Manda G, et al. Quercetin and epigallocatechin gallate effects on the cell membranes biophysical properties correlate with their antioxidant potential[J]. Gen Physiol Biophys, 2012, 31(1): 47-55
- [7] Ionescu D, Margina D, Ilie M, et al. Quercetin and epigallocatechin-3-gallate effect on the anisotropy of model membranes with cholesterol[J]. Food Chem Toxicol, 2013, 61: 94-100
- [8] Sun Y, Hung W C, Chen F Y, et al. Interaction of tea catechin (-)-epigallocatechin gallate with lipid bilayers [J]. Biophys J, 2009, 96(3): 1026-1035
- [9] Margina D, Ilie M, Gradinaru D. Quercetin and epigallocatechin gallate induce in vitro a dose-dependent stiffening and hyperpolarizing effect on the cell membrane of human mononuclear blood cells[J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(4): 4839-4859
- [10] Salinas S, Zussy C, Loustalot F, et al. Disruption of the coxsackievirus and adenovirus receptor-homodimeric interaction triggers lipid microdomain- and dynamin-dependent endocytosis and lysosomal targeting[J]. J Biol Chem, 2014, 289(2): 680-695
- [11] Burkard C, Bloyet L M, Wicht O, et al. Dissecting virus entry: replication-independent analysis of virus binding, internalization, and penetration using minimal complementation of beta-galactosidase[J]. PLoS One, 2014, 9(7): e101762
- [12] Bhella D. The role of cellular adhesion molecules in virus attachment and entry[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2015, 370(1661)
- [13] Chang Y S, Liao C L, Tsao C H, et al. Membrane permeabilization by small hydrophobic nonstructural proteins of Japanese encephalitis virus[J]. J Virol, 1999, 73(8): 6257-6264
- [14] Freeman M C, Peek C T, Becker M M, et al. Coronaviruses induce entry-independent, continuous macropinocytosis [J]. MBio, 2014, 5(4): e1314-e1340
- [15] Sollner T H. Intracellular and viral membrane fusion: a uniting mechanism[J]. Curr Opin Cell Biol, 2004, 16(4): 429-435
- [16] Tamba Y, Ohba S, Kubota M, et al. Single GUV method reveals interaction of tea catechin (-)-epigallocatechin gallate with lipid membranes[J]. Biophys J, 2007, 92(9): 3178-3194
- [17] Tsuchiya H. Stereospecificity in membrane effects of catechins[J]. Chem Biol Interact, 2001, 134(1): 41-54
- [18] Catel-Ferreira M, Tnani H, Hellio C, et al. Antiviral effects of polyphenols: Development of bio-based cleaning wipes and filters[J]. J Virol Methods, 2015, 212: 1-7
- [19] Oteiza P I, Erlejtman A G, Verstraeten S V, et al. Flavonoid-membrane interactions: a protective role of flavonoids at the membrane surface?[J]. Clin Dev Immunol, 2005, 12(1): 19-25
- [20] Zhang Y, Wang Z, Chen H, et al. Antioxidants: potential antiviral agents for Japanese encephalitis virus infection [J]. Int J Infect Dis, 2014, 24: 30-36
- [21] Ly C, Yockell-Lelievre J, Ferraro Z M, et al. The effects of dietary polyphenols on reproductive health and early developmentdaggar[J]. Hum Reprod Update, 2014