

Um guia para o site nature.com

Este guia ilustra algumas das ferramentas e serviços premiados disponíveis em nature.com. Se você está procurando informação, buscando artigos relacionados, ou configurando alertas pessoais por e-mail ou RSS feed, saber como navegar à sua maneira em nature.com vai lhe facilitar a vida.

Tão fácil como 1-2-3

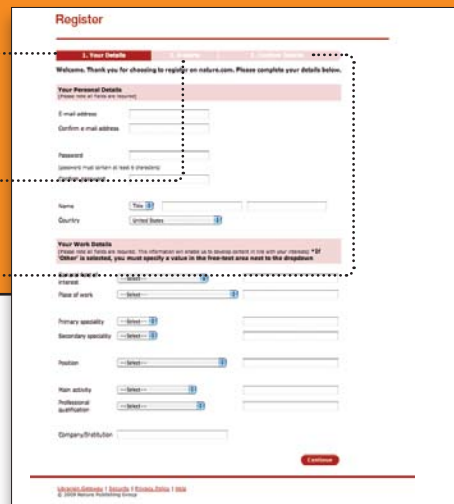
Para aproveitar ao máximo nature.com, comece registrando a sua conta pessoal. Estes três passos simples vão fornecer um início de sessão único para as funcionalidades de nature.com e são essenciais se você possui uma assinatura individual.



Introduza os seus dados pessoais.

Selecione os seus e-alerts (alertas por email) preferidos por tema ou publicação.

Verifique as suas informações e confirme.



Página inicial

Todos os jornais em nature.com seguem realmente o mesmo design de página, assim você logo se sente em casa quando alterna entre os diferentes jornais. A página inicial do jornal apresenta uma janela para os conteúdos mais recentes, à medida que são publicados online, bem como para navegação pelos conteúdos arquivados e serviços online dos jornais. Para acesso fácil, utilize os links existentes nas barras de navegação esquerda e direita.



Leia primeiro os artigos de pesquisa mais recentes — os artigos são publicados online antes da versão impressa.

Selecione *Current issue* (Edição atual) para ver o índice.

Acesse as últimas notícias em *Nature News*.

Navegue pelo *Archive* (Arquivo) do jornal por ano e edição.

Supplements (Suplementos) e Web focuses (Em Foco na Web) destacam tópicos-chave e são publicados de forma complementar às edições regulares.

Muitos jornais publicam conteúdos em mídia alternativa, como vídeo e podcasts.

Sign up for e-alerts (Registre-se para receber e-alertas) deste jornal. Se você já possui uma conta registrada, esta será atualizada automaticamente.

Se utiliza este jornal no trabalho ou para estudos, entre em contato com o gestor da biblioteca ou de informações e recomende-lhes que subscribam em seu nome.

Muitos jornais fornecem o índice de conteúdo mais recente em forma de notícias via RSS feed.

Descubra quais artigos estão fazendo as manchetes nas notícias globais.

Tire o máximo proveito de um artigo

Encontrar o artigo que você precisa é o seu ponto de partida, mas você pode fazer muito mais do que apenas lê-lo. Compartilhe sua pesquisa com amigos e colegas, envie seus comentários, exporte diagramas para slides, salve suas referências, acesse informação adicional (muitas vezes não disponível na versão impressa), e encomende o equipamento que você necessita.

FIGURE 1. RNAi screen and bioinformatics.

a. West Nile virus RNAi screen strategy (see text for description). **b.** c. Bioinformatics classification of hits into biological process (b) and molecular function (c) categories. *Categories found enriched ($P < 0.05$) relative to all the genes examined in the RNAi screen. Only categories with ten or more members are displayed.

d. West Nile virus RNAi screen strategy (see text for description). **e.** Bioinformatics classification of hits into biological process (b) and molecular function (c) categories. *Categories found enriched ($P < 0.05$) relative to all the genes examined in the RNAi screen. Only categories with ten or more members are displayed.

References

1. Britton, M. A. The molecular biology of West Nile Virus: A new invader of the western hemisphere. *Annu. Rev. Microbiol.* **56**, 371-402 (2002) | Article | Full text | ISI | Crossref |
2. Chiu, J. J. & Ng, M. L. Infectious entry of West Nile virus occurs through a clathrin-mediated endocytic pathway. *J. Virol.* **78**, 10543-10555 (2004) | Article | Full text | Crossref |
3. Krishnan, M. et al. Rab 5 is required for the cellular entry of dengue and West Nile viruses. *J. Virol.* **81**, 6851-6855 (2007) | Article | Full text | Crossref |
4. Brass, A. L. et al. Identification of host proteins required for HIV infection through a functional genomic screen. *Science* **319**, 921-926 (2007) | Article | Full text | Crossref |
5. Ng, T. S. et al. Identification of host genes involved in hepatitis C virus replication by small interfering RNA technology. *Hepatology* **45**, 1413-1421 (2007) | Article | Full text | Crossref |
6. Beckmann, L. et al. Genome-wide analysis of human kinases in clathrin- and caveolin-mediated endocytosis. *Nature* **436**, 78-86 (2005) | Article | Full text | ISI | Crossref |
7. Davis, W. G., Blackwell, J. L., Shi, P. Y. & Brinson, M. A. Interaction between the cellular protein eEF1A and the 3'-terminal stem-loop of West Nile virus genomic RNA facilitates viral minus-strand RNA synthesis. *J. Virol.* **81**, 10172-10187 (2007) | Article | Full text | Crossref |
8. Emara, M. M. & Brinson, M. A. Interaction of TIA-1/LTAR with West Nile and dengue virus products in infected cells interferes with stress granule formation and processing body assembly. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **104**, 9043-9048 (2007) | Article | Full text | Crossref |
9. Hirsch, A. J. et al. The Src family kinase c-Yes is required for maturation of West Nile virus particles. *J. Virol.* **79**, 11943-11951 (2005) | Article | Full text | Crossref |
10. Mackenzie, J. M., Khramykh, A. A. & Porter, R. G. Cholesterol manipulation by West Nile virus perturbs the cellular immune response. *Cell Host Microbe* **3**, 229-239 (2007) | Article | Full text | Crossref |
11. Fredericksen, B. L., Smith, M., Katze, M. G., Shi, P. Y. & Gale, M. The host response to West Nile virus infection limits viral spread through the activation of the interferon regulatory factor 3 pathway. *J. Virol.* **78**, 7727-7747 (2004) | Article | Full text | Crossref |
12. Lim, J. et al. A protein-protein interaction network for human inherited ataxias and disorders of Purkinje cell degeneration. *Cell* **125**, 801-814 (2006) | Article | Full text | ISI | Crossref |
13. Hwang, T. et al. A nonsense mutation in the gene encoding 2'-5'-oligoadenylate synthetase/L1 isoform is associated with West Nile virus susceptibility in laboratory mice. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **99**, 11311-11316 (2002) | Article | Full text | Crossref |
14. Samuel, M. A. et al. PKR and RPKase L contribute to protection against lethal West Nile virus infection by controlling early viral spread in the periphery and replication in neurons. *J. Virol.* **80**, 7009-7019 (2006) | Article | Full text | ISI | Crossref |
15. Schenck, S. V., Parashar, S. H., Bhanu, B. M., Silverman, R. H. & Brinson, M. A. RPKase L plays a role in the antiviral response to West Nile virus. *J. Virol.* **80**, 2987-2999 (2006) | Article | Full text | Crossref |
16. Tiede, T., White, M. R., Gantz, D., Crowch, G. C. & Harsanyi, K. L. Human Hsp70.1, a P. & P. protein-linked Hsp70.1, is a component of the Hsp70.1 family. Structure, function and regulation. *Biochem. J.* **343**, 281-299 (1999) | Article | Full text | ISI | Crossref |
17. Chiu, M. W., Shi, H. M., Yang, T. H. & Yang, Y. L. The type 2 dengue virus envelope protein interacts with small ubiquitin-like modifier-1 (SUMO-1) conjugating enzyme 9 (Ubc9). *J. Biol. Chem.* **281**, 429-444 (2006) | Article | Full text | Crossref |
18. Hanks, S. K., Rycheva, L., Shi, H. Y. & Brabeck, J. Focal adhesion kinase signaling activities and their implications in the control of cell survival and motility. *Front. Biosci.* **8**, 992-999 (2003) | Article | Full text | ISI | Crossref |
19. Ni, H. et al. The PANTHER database of protein families, subfamilies, functions and pathways. *Nucleic Acids Res.* **33**, D264-D268 (2005) | Article | Full text | ISI | Crossref |
20. Su, A. I. et al. A gene atlas of the mouse and human protein-coding transcriptomes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **101**, 6062-6067 (2004) | Article | Full text | ISI | Crossref |

Tipo de Artigo

DOI e dados úteis

Título do artigo

Autores e instituições contribuidoras, com contato para correspondência incluso.

Os artigos começam com um resumo.

Figuras, métodos e referências estão incorporados no artigo e podem ser expandidos para tela cheia.

Todas as referências estão listadas com links no final do artigo.

Alguns artigos oferecem no final a opção de comentar e participar da discussão.

Letter

RNA interference screen for human genes associated with West Nile virus infection

Manoj N. Krishnan¹, Aylin Ng², Bindu Sukumaran³, Felicia D. Gilfoy⁴, Pradeep D. Uchil⁵, Hameeda Sultana⁶, Abraham L. Brass⁷, Rachel Adamez⁸, Melody Tsui⁹, Feng Qian⁹, Ruth R. Montgomery⁹, Sima Lev⁹, Peter W. Mason⁹, Raymond A. Koski⁹, Stephen J. Elledge^{2,10}, Ramnik J. Xavier^{5,11}, Hervé Agaisse^{3,11} & Erol Fikrig^{1,10,11}

West Nile virus (WNV), and related flaviviruses such as tick-borne encephalitis, Japanese encephalitis, yellow fever and dengue viruses, constitute a significant global human health problem¹. However, our understanding of the molecular interaction of such flaviviruses with mammalian host cells is limited¹. WNV encodes only 10 proteins, implying that it may use many cellular proteins for infection¹. WNV enters the cytoplasm through pH-dependent endocytosis, undergoes cycles of translation and replication, assembles progeny virions in association with endoplasmic reticulum, and exits along the secretory pathway^{1,2,3}. RNA interference (RNAi) presents a powerful forward genetics approach to dissect virus-host cell interactions^{4,5,6}. Here we report the identification of 305 host proteins that affect WNV infection, using a human-genome-wide RNAi screen. Functional clustering of the genes revealed a complex dependence of this virus on host cell physiology, requiring a wide variety of molecules and cellular pathways for successful infection. We further demonstrate a requirement for the ubiquitin ligase CBL1 in WNV internalization, a post-entry role for the endoplasmic-reticulum-associated degradation pathway in viral infection, and the monocarboxylic acid transporter MCT4 as a viral replication resistance factor. By extending this study to dengue virus, we show that flaviviruses have both overlapping and unique interaction strategies with host cells. This study provides a comprehensive molecular portrait of WNV-human cell interactions that forms a model for understanding single plus-stranded RNA virus infection, and reveals potential antiviral targets.

THE HOST PROTEINS previously reported to facilitate WNV infection (termed host susceptibility factors; HSFs) comprise endosomal transport regulators and vATPase (for entry), eEF1A, TIA-1/LTAR and HMGCR (for replication), and c-Yes (for secretion)^{7,8,9,10}. Other host proteins may reduce WNV infection (termed host resistance factors, HRFs): components of the antiviral IRF3 pathway are known HRFs of WNV infection¹¹. In this context, we performed a genome-scale small interfering RNA (siRNA)-based screen silencing 21,121 human genes in HeLa cells to comprehensively identify the cellular proteins associated with the early stages of WNV infection, from viral entry through to the intracellular translation of viral RNA. Defects in the later stages of infection, such as replication, assembly or secretion, were not scored by the assay. The assay involved infection of gene-silenced cells with WNV for 24 h, followed by a microscopy-based quantification of the cells immunostained for viral envelope protein to select the candidate host proteins. The screen was done in two steps: a primary screen using a pool of four siRNAs per gene, followed by a validation screen, testing each individual siRNA within the pool separately (for the hits selected in the primary screen) to minimize potential off-target hits (Fig. 1a). The details of the assay and screen are described in Methods and Supplementary Fig. 1.

The RNAi screen identified 283 HSFs and 22 HRFs (of which 273 and 21 respectively are novel; Supplementary Tables 1 and 2). The number of HRFs constituted 7% of the total host factors identified. The identification of (1) some of the known HSFs (vATPase, endosomal transport regulators) and HRFs (IRF3; ref. 11) of WNV infection, and (2) multiple components of macromolecular assemblies—for example, vATPase, the endoplasmic-reticulum-associated degradation (ERAD) pathway, focal adhesion complex (FAC)—validated the reliability of our approach and the *in vitro* model. A cellular map summarizing several screen hits classified into cellular compartments and broad functional association categories is provided in Supplementary Fig. 2.

Of the 283 HSFs, 195 (69%) and 193 (68%) could be classified using biological process and molecular function categories, respectively (Fig. 1b,c, Supplementary Tables 3 and 4). There was a significant enrichment of genes regulating intracellular protein trafficking, cell adhesion and processes associated with the transport of ions and biomolecules. The enriched molecular function

Ler ou imprimir o artigo em formato PDF.

Enviar o artigo para um colega ou amigo em formato PDF.

Envie a sua opinião para análise na seção *letters to the Editor* (Cartas ao Editor).

Exporte a informação de citação para o formato Word ou Notepad.

Marque o artigo dentro da sua conta *Connotea* para compartilhar a sua pesquisa com outras pessoas.

Navegue pelo artigo através destes links.

Abra *Supplementary info* (Informação Suplementar) em formato PDF.

Entre em *PubMed* (Publicações) para artigos adicionais destes autores.

Entre em *NatureJobs* (Empregos na Nature) para vagas de emprego em áreas relacionadas.

Entre em *NatureProducts* (Produtos Nature) para comparar e encomendar produtos e equipamentos utilizados em pesquisa.

Os anúncios publicitários encontrados em *nature.com* estão claramente identificados e dispostos de acordo com o conteúdo do artigo.

Supplementary Information

Supplementary Table 1. RNAi screen identifies 283 human genes required for West Nile virus (WNV) infection. All of the identified 283 genes that qualified the selection criteria are arranged in alphabetical order. Column E shows how many individual siRNAs scored out of the four comprising the pool against each gene, when tested separately. Columns G, L, Q, V and AI: shows the fold reduction in WNV infection when the indicated genes were silenced with either individual siRNAs (G, L, Q, V) or pooled siRNAs (AI), and columns H, M, R, W and AJ are the corresponding Z-scores (standard deviation (SD) from the mean infection of control samples). The relative cell numbers (RCN, number of cells in gene silenced wells/number of cells in control) for G, L, Q, V and AI are shown in I, N, S, X and AK; and the corresponding SD are shown in J, O, T, Y and AL. Column AN shows fold reduction of dengue virus (DENV) infection (column AO shows the corresponding SD) when genes were silenced with pooled siRNAs. The RCN corresponding to AN is shown in AP (AQ shows the corresponding SD). 'NT' indicates not tested in the individual siRNA screen against WNV. 'NTD' indicates not tested against dengue virus.

Supplementary Table 2. RNAi screen identifies 22 human genes whose silencing enhances West Nile virus (WNV) infection. All of the identified 22 genes that qualified the selection criteria are arranged in alphabetical order. Column E shows how many individual siRNAs scored out of the four comprising the pool against each gene, when tested separately. Columns G, L, Q, V and AI: shows the fold reduction in WNV infection when the indicated genes were silenced with either individual siRNAs (G, L, Q, V) or pooled siRNAs (AI), and columns H, M, R, W and AJ are the corresponding Z-scores (standard deviation (SD) from the mean infection of control samples). The relative cell numbers (RCN, number of cells in gene silenced wells/number of cells in control) for G, L, Q, V and AI are shown in I, N, S, X and AK; and the corresponding SD are shown in J, O, T, Y and AL. Column AN shows fold reduction of dengue virus (DENV) infection (column AO shows the corresponding SD) when genes were silenced with pooled siRNAs. The RCN corresponding to AN is shown in AP (AQ shows the corresponding SD). 'NT' indicates not tested in the individual siRNA screen against WNV. 'NTD' indicates not tested against dengue virus.

Procurando respostas?

Encontrar a informação certa em nature.com é fácil e intuitivo. Campos de pesquisa estão presentes no canto superior direito de todas as páginas dos jornais, com a opção *Advanced search (Pesquisa avançada)* para fornecer resultados mais refinados. A funcionalidade *Save Search (Salvar pesquisa)* da nature.com permite-lhe salvar e voltar a utilizar os termos de pesquisa, com novos resultados detectados e fornecidos automaticamente.

Pesquise utilizando palavras-chave e refine sua pesquisa em publicações selecionadas.

Refine ainda mais a sua pesquisa, por autor, por título de artigo, por data, etc.

Pesquise por DOI (Identificador Digital de Objeto)

The screenshot shows the 'nature.com search' page. At the top, there are navigation links for 'nature.com', 'Publications A-Z Index', and 'Browse by subject'. The main search area includes a 'Search' input field, a 'Refine search' section with fields for 'Author(s)', 'Title', 'Volume', 'Issue', 'Start page', and 'Publication date' (with sub-fields for Day, Month, Year). There are also options for 'Or from:' and 'Or published within the last...'. A 'DOI search' section is at the bottom. On the right, there are options for 'Display results by:' (Relevance) and '10 per page'. A 'Search' button is located at the bottom right.

Selecione a aba *Saved Searches (Pesquisas salvas)* para visualizar a sua lista pessoal de resultados de pesquisa armazenados. Isto é explicado na imagem da tela abaixo.

CrossRef Search (Pesquisa por Referências) ativa uma busca livre de texto integral entre editoras de conteúdos acadêmicos de pesquisa.

Escolha como quer visualizar os seus resultados

- por relevância
- por data
- por publicação
- por tipo de artigo
- até 100 resultados por página

Este exemplo de pesquisa foi para 'West Nile', em todos os jornais NPG, sem intervalo de data especificado.

The screenshot shows the search results for 'west nile'. The page title is 'Search results for: west nile' with 'Results 1 - 10 of 1293'. Below the title, there are links for 'Refine this query', 'Advanced search', 'Save Search', and 'View saved searches'. There are two search suggestions: 'Blue Hecox Rio Grand' and 'Equine West Nile Vaccine'. The 'Sort results by:' section shows 'Relevance' selected. There are three main search results listed, each with a title, authors, and a summary. On the right, there are sections for 'Refine your search: Find west nile in these Journals' and 'Refine your search: Find west nile in these Subjects'. At the bottom, there are links for 'nature products'.

Selecione estes links para refinar ou reiniciar sua pesquisa.

Altere a forma de visualização dos resultados utilizando as listas de opções.

Selecione para ocultar o 'summary' (resumo) e 'context' (contexto) do artigo.

Clique nos links para ler o resumo ou acessar o artigo em texto integral ou versão PDF.

Se deseja pesquisar novamente utilizando os mesmos termos, selecione *Save Search (Salvar Pesquisa)* e os artigos mais recentes serão automaticamente detectados para você. Você pode alterar os termos de pesquisa e visualizar novos resultados a qualquer momento ou receber os resultados no seu endereço de e-mail registrado.

Refine a sua pesquisa por jornais específicos ou áreas temáticas.

Para ir além do artigo

podcasts: baixe arquivos de áudio destacando o melhor da semana em ciência do Nature e assuntos.

video: aproveite os vídeos online com os cientistas a discussão e análise dos cientistas, à medida que compartilham as suas descobertas.

Mais: gráficos interativos, testes, galerias de vídeo, imagens, animações e muito mais.

Para se informar sobre as novas funcionalidades a serem implementadas em nature.com, visite regularmente o versão de teste beta do site em www.nature.com/launchpad

blogs: dê a sua opinião sobre as notícias do dia ou discussões ampliadas sobre os outros jornais.

arquivos do google earth: Descubra como o uso recente de programas como o Google Earth pode ajudar os cientistas a descobrir e a compartilhar informação.

