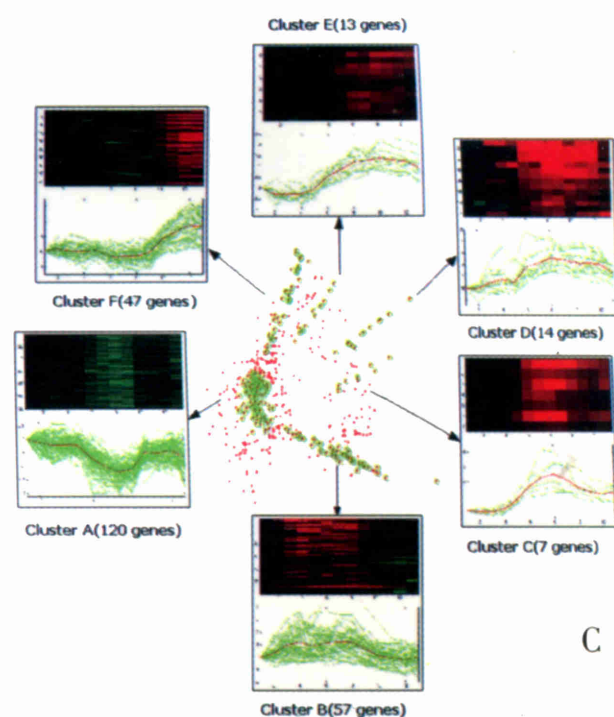
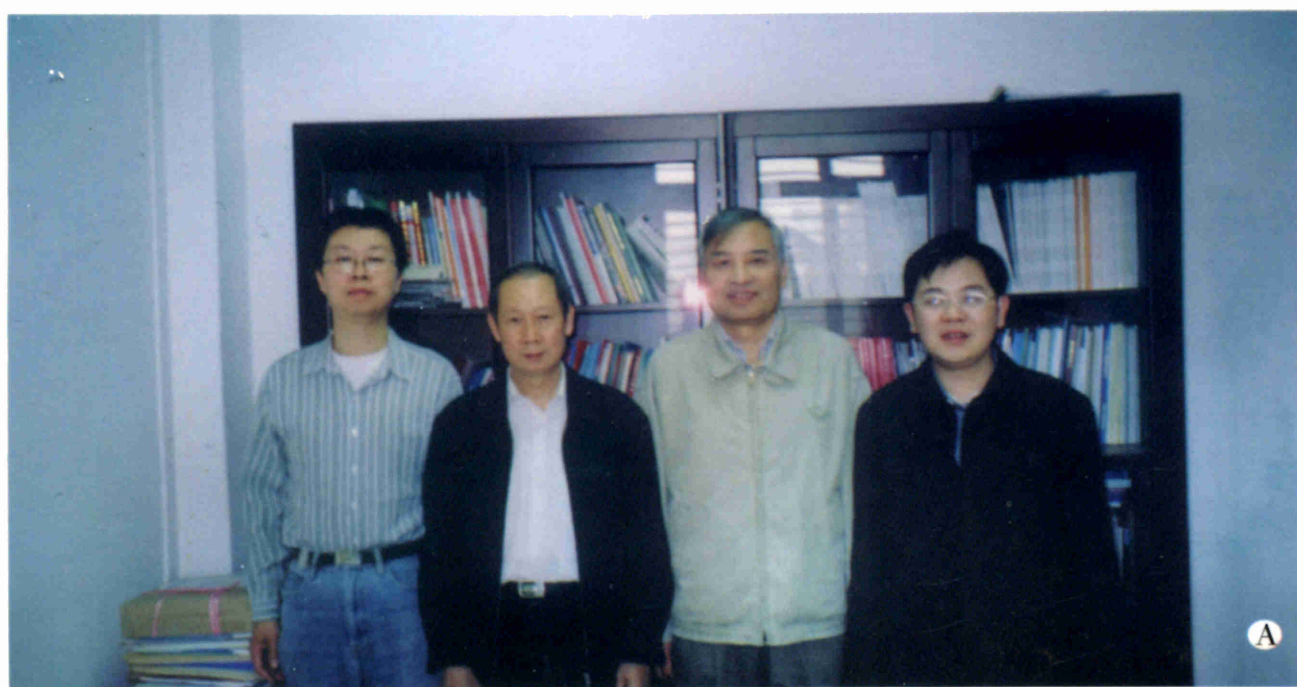


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 10 月 15 日 第 11 卷 第 10 期 (Volume 11 Number 10)



10/2003

ISSN 1009-3079



名誉总编辑
潘伯荣
总编辑
马连生

World Journal of Gastroenterology® 被 SCI®-E, Research Alert®, Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports® Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2002 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 2.532. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●

2003 年 10 月 15 日 第 11 卷 第 10 期 (总第 114 期)

述 评	1465 复杂性疾病生物信息学研究的策略与方法 李梢, 张学工, 季梁, 李衍达
幽门螺杆菌	1470 幽门螺杆菌黏附素基因 babA ₂ 的克隆、序列测定及其生物信息学分析 白杨, 黄文, 王继德, 张兆山, 周殿元, 张亚历 1475 幽门螺杆菌 HspA 与大肠杆菌 LTB 基因融合及表达 郭红, 邹全明, 赵晓晏, 吴超 1480 人幽门螺杆菌热休克蛋白 A 编码基因的克隆、表达及抗原性研究 姜政, 蒲丹, 黄爱龙, 陶小红, 王丕龙 1485 幽门螺杆菌对克拉霉素耐药的分子基础 郝庆, 李岩, 高红, 张显忠
基础研究	1488 氧化苦参碱对四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化 I, III, IV 型胶原表达的影响 陆伦根, 曾民德, 茅益民, 李继强, 邱德凯, 杨文卓, 贾一韬, 曹爱平 1492 粉防己碱、大黄与潘生丁抗肝纤维化作用比较 王如涛, 陈颖伟, 卫新革, 徐芹芳, 李定国 1497 珍珠梅水提物对大鼠肝损伤的保护作用 张学武, 朴龙, 刘超, 孙权, 金海玲, 尹宗柱 1500 乙型肝炎病毒 S 基因系列单突变克隆人工构建 余祖江, 杨东亮, 张俊, 郝友华, 王宝菊, 郝连杰 1505 急性胰腺炎大鼠肝脏 NF- κ B 对 ICAM-1 表达的调控及其意义 石力, 田伏洲, 黄大熔, 李旭, 赵碧, 顾大勇, 唐旭东, 王雨 1508 丁酸钠对结肠癌细胞株 HT-29 组织蛋白酶 D 表达水平的影响 李曦, 罗和生, 李凡 1511 国人青年结直肠癌解剖部位分布及临床病理特点 谢正勇, 卿三华 1515 慢性乙型肝炎病毒清除自杀基因平衡制约载体系统的构建 阙全程, 余祖江, 雷延昌, 杨东亮, 郝连杰 1520 人工构建含丙型肝炎病毒核糖体插入位点的双顺反子表达载体 阙全程, 余祖江, 雷延昌, 杨东亮, 郝连杰 1524 溃疡性结肠炎患者肠黏膜 Th1/Th2 类细胞因子 m-RNA 的表达 崔海宏, 陈村龙, 杨玉捷, 张祚建, 张耀东, 崔耀升
临床研究	1528 自膨胀金属支架治疗晚期食管癌吞咽困难 26 例 张朋彬, 赵晓晏, 李宜辉, 达四平 1531 胃癌组织 CD ₄₄ v9 和 MMP-2 基因的表达 张翠萍, 田宇彬, 赵清喜, 武军, 梁永信 1535 奥沙利铂综合治疗胃癌的疗效及机制 林万隆, 李定国, 陈强, 陆汉民, 马小明, 孙培龙 1540 聚合酶链反应检测 SEN 病毒 D 型和 H 型方法的建立及初步应用 唐蔚, 彭晓谋, 张瑛, 王辉, 蒋晓玲, 周伯平 1544 肝病患者血清 IGF-I 和 IGF-II 的变化 邵静鸣, 俞丽芬, 张曙, 吴云林 1547 ERCP 对儿童胰腺炎的诊断与治疗价值 李兆申, 许国铭, 施新岗, 邹晓平, 金震东, 孙振兴 1550 急性胆源性胰腺炎内镜诊治疗效及安全性 王东, 李兆申, 张文俊, 潘雪, 孙振兴, 邹晓平 1554 胰腺癌组织 ChAT, GAD65 和 PKC 酶活性的表达 杨竹林, 王群伟, 邓星辉, 李代强, 吕芳, 李永国 1558 国人胆囊结石的形态结构特征 吴杰, 杨海珉, 李静仪, 宋一德, 刘刚 1563 结核性腹膜炎与恶性腹水端粒酶活性 赵金满, 李福才, 于继红, 崔巍, 傅宝玉, 沙文阁
科研方法	1566 山莨菪碱联用地塞米松治疗腹部外科疾病并发 MODS 临床研究的操作方案 岳茂兴
文献综述	1569 门脉高压性肠病 尹朝晖, 刘浔阳 1572 肝纤维化治疗研究进展 叶方鹏, 肖冰, 张万岱 1576 现代肝脏局部解剖在活体部分肝移植应用的研究进展 方驰华, 朱新勇 1581 生长抑素类似物治疗肝细胞肝癌的抗肿瘤作用及其机制 冒海蕾, 黄介飞 1588 胰头部解剖在扩大胰十二指肠切除术中的应用 方驰华, 马俊勋, 钟世镇 1593 p53 基因在肿瘤基因治疗中的研究进展 张艳, 何凤田 1597 血管抑素的研究进展 陈建发, 黄宗海 1601 TGF β -Smad 信号转导通路与肝纤维化 吴晓玲, 曾维政, 王丕龙 1606 消化管发育中上皮细胞凋亡研究进展 李均, 汪维伟 1609 生物芯片技术及其在消化系统疾病研究中的应用 蒋业贵, 李兆申

文献综述	1614 Wilson病的诊断和治疗 林连捷, 郑长青 1618 E- 钙粘蛋白与食管癌侵袭转移的关系 吴静, 薛群基, 刘维民, 王爱勤, 寇伟 1621 胰腺癌的光动力学治疗 丁新民, 顾瑛, 刘凡光 1624 Ets 转录因子家族在发育和肿瘤发生中作用的研究进展 张健, 高福禄, 刘芝华 1628 核因子-κB 与细胞凋亡关系的研究进展 於亮亮, 于皆平, 罗和生, 于红刚
研究快报	1632 paxillin 在胃腺癌中的表达及临床意义 田素芳, 熊永炎, 余少平, 汪必成 1634 丹参对 TGF-β1 刺激的 NIH/3T3 细胞 <i>c-fos</i> mRNA 表达和 AP1 蛋白结合活性的影响 胡旭东, 王晓玲, 童普德, 吴小江, 刘平 1636 左旋精氨酸对大鼠肝脏缺血再灌注损伤的保护作用 郝悦, 周新民 1638 端粒酶在大肠癌细胞中的活性表达及临床意义 鲁明良, 林富林, 郑国宝, 姜朝晖 1640 多种因子在门脉高压大鼠结肠黏膜中的表达 尹朝晖, 刘浚阳, 黄飞舟, 黄穰浪, 任树平 1642 黄连素对 HT-29 人结肠癌细胞系 Ca ²⁺ 的抑制作用 台卫平, 罗和生 1645 DPC4 蛋白在不同病理分期的结肠肿瘤中的表达 唐朝晖, 邹声泉, 杨想平, 陈启奇 1646 Genistein 和 PD98059 对 aFGF 及 bFGF 诱导的 CCL229 细胞增生的抑制作用 尚海, 张颐, 单吉贤 1649 CO ₂ 气腹对肠道菌群生物学特性影响的实验研究 周丁华, 卫冰, 李宁, 黎介寿 1652 CO ₂ 气腹对大鼠胃肠肌电作用的实验研究 周丁华, 卫冰, 李宁, 黎介寿 1654 CO ₂ 气腹对胃黏膜血管活性肠肽及 P 物质含量的影响 周丁华, 卫冰, 李宁, 黎介寿
临床经验	1656 腹腔严重感染致多器官功能障碍的临床救治新对策 岳茂兴 1657 解毒固本冲剂治疗腹腔感染合并全身炎性反应综合征的临床研究 姜玉峰, 岳茂兴 1659 TIPSS 和 EVS 治疗食管静脉曲张破裂出血的临床分析 诸葛宇征, 王英德, 刘丽娜, 宫爱霞, 赵钢
消 息	1504 中国科技期刊走向世界的步伐正在加快 1568 欢迎订阅 2004 年度世界华人消化杂志 1571 欢迎订阅 2004 年度 World Journal of Gastroenterology® 1580 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊 1613 WJG 搭建我国消化学基础和临床研究惟一国际交流的平台 1655 世界胃肠病学杂志英文版获得 2003-2004 年国家自然科学基金重点学术期刊专项基金资助
封面故事	1553 清华大学生物信息学研究所、生物信息学教育部重点实验室

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名
(月刊)

创 刊 1993-01-15
改 刊 1998-01-25
出 版 2003-10-15
原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀
黄象谦
黄志强
黎介寿
刘耕陶
裘法祖
汤钊猷
王宝恩
危北海
吴孟超
吴咸中

社长总编辑 马连生
中文编辑 潘伯荣
王瑾晖
英文编辑 朱丽虹
排 版 李少华
校 对 李天华

张金哲
张学庸
赵东海
周殿元

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街 77 号
E-mail: wcjd@wjgnet.com

出版 世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市 2345 信箱
E-mail: wcjd @ wjgnet.com
http://www.wjgnet.com
电话: 010-85381892
传真: 010-85381893

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内: 北京报刊发行局
国外: 中国国际图书贸易总公司
(100044, 北京 399 信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部
(100023, 北京市 2345 信箱)
电话: 010-85381892
传真: 010-85381893
2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外
检索系统收录

美国《化学文摘(CA)》
荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》
俄罗斯《文摘杂志(P Ж)》
中国科技论文统计与分析
中国学术期刊文摘
中国中医药信息服务网
中国生物医学文献光盘数据库
《中文科技资料目录(医药卫生)》
中国生物医学期刊目次数据库
中国医学文摘外科学分册(英文版)
中国医学文摘内科学分册(英文版)

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

ISSN 1009-3079	邮发代号	国外代号	国内定价	广告经营许可证
CN 14-1260/R	82-262	M 4481	每期 24.00 元 全年 288.00 元	1401004000050

www.wjgnet.com

幽门螺杆菌黏附素基因 babA₂ 的克隆、序列测定及其生物信息学分析

白 杨, 黄 文, 王继德, 张兆山, 周殿元, 张亚历

白杨, 黄文, 王继德, 周殿元, 张亚历, 中国人民解放军第一军医大学南方医院全军消化病研究所 广东省广州市 510515
张兆山, 军事医学科学院生物工程研究所 北京市 100071
白杨, 男, 1973 年生, 山西省太原人, 汉族, 2002 年毕业于第一军医大学, 医学博士, 主治医师, 讲师. 主要从事消化系统疾病的研究.
“863”计划专题, No. 102-07-03-06
国家自然科学基金, No. 30170890, 30270078
军队“十五”医药卫生科研课题, No.OIMA-132
项目负责人: 张亚历, 100071, 广东省广州市广州大道北路 1838 号, 中国人民解放军第一军医大学南方医院全军消化病研究所. zhangyl@fimmu.edu.cn
电话: 020-61641531
收稿日期: 2002-10-29 接受日期: 2002-11-25

Cloning, sequencing and bioinformatics analysis of adhesin gene babA₂ of *Helicobacter pylori*

Yang Bai, Wen Huang, Ji-De Wang, Zhao-Shan Zhang,
Dian-Yuan Zhou, Ya-Li Zhang

Yang Bai, Wen Huang, Ji-De Wang, Dian-Yuan Zhou, Ya-Li Zhang, PLA Institute for Digestive Disease, The First Military Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China
Zhao-Shan Zhang, Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China
Supported by grants from State 863 High Technology R&D Project of China (102-07-03-06), the National Natural Science Foundation of China (30270078, 30270078) and the Public Health and Medical Research Project of the Chinese PLA of 10th Five-Year Plan .
Correspondence to: Dr Ya-Li Zhang, PLA Institute for Digestive Disease, the First Military Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. zhangyl@fimmu.edu.cn
Received: 2002-10-29 Accepted: 2002-11-25

Abstract

AIM: To obtain DNA of human *Helicobacter pylori* (Hp) adhesin gene babA₂ and the amplified fragment was inserted into plasmid pET-22b (+) for nucleotide sequencing analysis and to carry out bioinformatics analysis.

METHODS: The babA₂ DNA was amplified by PCR and inserted into the plasmid pET -22b (+) and sequenced. The biological property was analysed by the software ANTHEPROT V4.3c.

RESULTS: DNA sequencing analysis showed that the sequence of babA₂ DNA was the same as that published by GenBank. ANTHEPROT V4.3c software predicted its relative molecular mass(M_r) was 78 kD and it possessed good antigenicity and hydrophobicity.

CONCLUSION: A confirmed babA₂ gene has been obtained and bioinformatics analysis showed that it had good immunogenicity. Our study lays a good foundation for recombination, expression and relevant research on adhesin

gene babA₂ of *Helicobacter pylori*.

Bai Y, Huang W, Wang JD, Zhang ZS, Zhou DY, Zhang YL. Cloning, sequencing and bioinformatics analysis of adhesin gene babA₂ of *Helicobacter pylori*. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2003;11(10):1470-1474

摘要

目的: 获取幽门螺杆菌黏附素基因 babA₂, 并将他克隆到质粒 pET-22b(+) 中进行核苷酸序列分析, 并对其进行生物信息学分析, 为研究 Hp 黏附素的分子机制和免疫原性提供基础.

方法: 利用 PCR 技术扩增 babA₂, 并将其定向插入 pET-22b(+) 载体, 通过 DNA 序列分析仪进行核苷酸分析, 生物信息学软件对其进行生物学特性分析.

结果: DNA 序列分析表明, 所克隆的 babA₂ 基因序列与 GenBank 公布的一致. ANTHEPROT V4.3c 软件预测其蛋白质分子量约为 78 KD, 并显示出了良好的抗原性和疏水性.

结论: 本研究获得了序列正确的 babA₂ 基因, 生物信息学分析表明其具有优良的免疫原性, 为其重组表达及其相关研究奠定了良好的基础.

白杨, 黄文, 王继德, 张兆山, 周殿元, 张亚历. 幽门螺杆菌黏附素基因 babA₂ 的克隆、序列测定及其生物信息学分析. 世界华人消化杂志 2003;11(10):1470-1474

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1470.asp>

0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)感染是慢性胃炎和消化性溃疡的主要病因^[1-6], 与胃腺癌、胃黏膜相关性淋巴瘤组织恶性淋巴瘤的发生亦密切相关^[7-20]. 此外, 血清流行病学研究表明 Hp 感染与循环、呼吸、胃十二指肠外消化系统以及自身免疫疾病的发生也有关^[21-24]. 随着 Hp 病因地位的上升, 对其致病机制的研究日趋深入, Hp 的致病机制包括诸多环节, 但尤以其黏附机制最为关键, 因为 Hp 必须首先定植于人胃黏膜才能进一步发挥其致病作用, 而黏附又是 Hp 定植在胃黏膜表面的前提. 文献报道的 Hp 黏附素较多, 但已经证实的有四种, 即 LewisB 血型抗原(Leb)结合黏附素(BabA)、AlpA、AlpB 和 HopZ^[25]. 其中 BabA 是迄今为止惟一明确受体的 Hp 黏附素, 研究表明 babA 基因存在两个等位基因: babA₁ 和 babA₂, 其中 babA₁ 缺乏 10-bp 的重复序列, 其蛋白不具有与 Le^b 结

合的功能^[26]. 目前国内尚未见有关 babA₂ 的研究报道, 我们运用 PCR 技术克隆人幽门螺杆菌 babA₂ 基因, 并构建载体对其进行序列及生物信息学分析, 为进一步表达 babA₂ 基因, 研究其黏附作用、免疫原性等打下了基础.

1 材料和方法

1.1 材料 菌株 BL21(DE3) 及质粒 pET-22b(+) 由军事医学科学院生物工程研究所提供. 幽门螺杆菌 SS1 为本所保存. 限制性内切酶 Not I、Nco I 及 T4 DNA 连接酶、Vent DNA 聚合酶购自 New England Biolabs 公司, Taq DNA 聚合酶、DNA 分子量标准 λ DNA/EcoR I + Hind III 购自华美生物工程公司, 琼脂糖、dNTPs、DNA 快速纯化试剂盒购自 Promega 公司, 测序质粒纯化试剂盒购自 Qiagen 公司, 其他试剂为国产分析纯.

1.2 方法

1.2.1 Hp 染色体 DNA 的提取 固体培养基上刮取生长良好的 Hp 菌落, 按基因组 DNA 小量制备法制备^[27].

1.2.2 质粒的提取及纯化 质粒的快速抽提及大量制备均采用碱变性法^[27].

1.2.3 目的基因的 PCR 扩增 根据文献^[26]设计引物, 在其 5' 端加上合适的限制性酶切位点, 由军事医学科学院生物工程所张京生合成. 序列如下: babA₂1:5' -TG GCC ATG GAT AAA AAA CAC ATC CTT TCA-3', babA₂2:5' -AG TGC GGC CGC ATA AGC GAA CAC ATA G-3'. 热启动法进行 PCR, 95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 90 s, 35 个循环后再延伸 10 min. 0.8 % 琼脂糖凝胶电泳观察扩增结果.

1.2.4 DNA 片段的酶切、连接、转化和阳性克隆的鉴定^[27] 质粒和目的基因 DNA 经 Not I 和 Nco I 双酶切, 玻璃奶回收酶切片段, T4 连接酶作用下 16 °C 连接 12 h, 转化宿主菌 BL21(DE3), 双酶切鉴定筛选出阳性克隆.

1.2.5 序列测定及分析 碱裂解法大量抽提经双酶切鉴定的重组克隆质粒, 用自动测序仪进行序列分析.

1.2.6 生物信息学分析 ANTHEPROT V4.3c 软件分析其生物学特性.

2 结果

2.1 babA₂ 基因的扩增 PCR 结果电泳分析发现在 2 200 bp 左右有一条带, 大小与预计相符.

2.2 重组质粒的构建及酶切鉴定 重组质粒的构建如图 1, 将 PCR 产物经 Not I 和 Nco I 双酶切后, 定向插入经同样双酶切的 pET-22b(+) 载体中, 获得重组质粒命名为 pET-22b(+)/BabA₂. 经 Not I 和 Nco I 双酶切后的重组质粒电泳, 结果与预计相符.

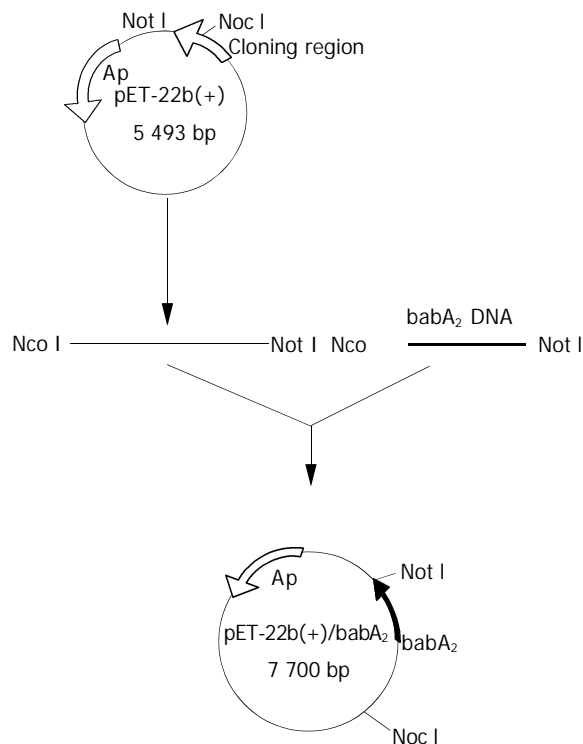


图 1 重组质粒 pET-22b(+)/BabA₂ 的构建示意图.

2.3 babA₂ 基因片段的序列分析 直接以重组质粒 pET-22b(+)/BabA 为模板进行测序, 得到了克隆片段的 DNA 序列, 与 Ilver et al^[26]报道的一致. babA₂ 基因编码区的核苷酸序列和氨基酸序列见图 2.

```

atg  aaa  aaa  cac  atc  ctt  tca  tta  act  tta  ggc  tgc  ctt  tta  gtt  tcc  act  ttg  agc  gct
M   K   K   H   I   L   S   L   T   L   G   S   L   L   V   S   T   L   S   A
gaa  gac  gac  ggc  ttt  tac  aca  agc  gta  ggc  tat  caa  atc  ggt  gaa  gcc  gct  caa  atg  gta
E   D   D   G   F   Y   T   S   V   G   Y   Q   I   G   E   A   A   Q   M   V
aca  aac  acc  aaa  ggc  atc  caa  gat  ctt  tca  gac  aac  tat  gaa  aac  ttg  agc  aaa  ctt  ttg
T   N   T   K   G   I   Q   D   L   S   D   N   Y   E   N   L   S   K   L   L
acc  cga  tac  agc  acc  cta  aac  acc  ctt  atc  aaa  ttg  tcc  gct  gat  ccg  agc  gcg  att  aac
T   R   Y   S   T   L   N   T   L   I   K   L   S   A   D   P   S   A   I   N
gcg  gca  cgt  gaa  aat  ctg  ggc  gcg  agc  gcg  aag  aac  ttg  atc  ggc  gat  acc  aaa  aat  tcc
A   A   R   E   N   L   G   A   S   A   K   N   L   I   G   D   T   K   N   S
ccc  gcc  tat  caa  gcc  gtg  ctt  ttg  gcg  atc  aat  gcg  gcg  gta  ggg  ttt  tgg  aat  gtc  tta
P   A   Y   Q   A   V   L   L   A   I   N   A   A   V   G   F   W   N   V   L
ggc  tat  gct  acg  caa  tgc  ggg  ggt  aac  gct  aat  ggt  caa  gaa  agc  acc  tct  tca  acc  acc
G   Y   A   T   Q   C   G   G   N   A   N   G   Q   E   S   T   S   S   T   T

```

```

atc ttc aac aac gag cca ggg tat cga tcc act tcc atc act tgc agt ttg aac agg tat
I F N N E P G Y R S T S I T C S L N R Y
aag cct gga tac tac ggc cct atg agc att gaa aat ttc aaa aag ctt aac gaa gcc tat
K P G Y Y G P M S I E N F K K L N E A Y
caa atc ctc caa acg gct tta aat aaa ggc tta ccc gcg ctc aaa gaa aac aac gga acg
Q I L Q T A L N K G L P A L K E N N G T
gtc agt gta acc tac acc tac aca tgc tca ggg gaa ggg aat gat aac tgc tcg aaa aaa
V S V T Y T Y T C S G E G N D N C S K K
gcc aca ggt gta agt gac caa aat ggc gga acc aaa act aaa acc caa acc ata gac ggc
A T G V S D Q N G G T K T K T Q T I D G
aaa acc gta acc acc acc agc atc agt tca aaa gtc gtt gat agt cag gca aaa ggt aat aca
K T V T T T I S S K V V D S Q A K G N T
aca agg gtg tcc tac acc gaa atc atc aac aaa tta gac ggt gtg cct gat agc gct caa
T R V S Y T E I T N K L D G V P D S A Q
gcg ctc ttg gcg caa gcg agc acg ctc atc aac acc atc aac acg gca tgc ccg tat ttt
A L L A Q A S T L I N T I N T A C P Y F
agt gta act aat aaa agt ggt ggt cca cag atg gaa ccg act aga ggg aag ttg tgc ggt
S V T N K S G G P Q M E P T R G K L C G
ttt aca gaa gaa atc agc gcg atc caa aag atg atc aca gac gcg caa gag ctg gtc aat
F T E E I S A I Q K M I T D A Q E L V N
caa acg agc gtc att aac gag cat gaa caa tca acc ccg gta ggc ggt aat aat ggc aag
Q T S V I N E H E Q S T P V G G N N G K
cct ttc aac cct ttc acg gac gca agc ttc gct caa ggc atg ctc gct aac gct agt gcg
P F N P F T D A S F A Q G M L A N A S A
caa gcc aaa atg ctc aat cta gcc cat caa gtg ggg caa acc att aac cct gac aat ctt
Q A K M L N L A H Q V G Q T I N P D N L
acc ggg act ttt aaa aat ttt gtt aca ggc ttt tta gcc aca tgc aac aac aaa tca aca
T G T F K N F V T G F L A T C N N K S T
gct ggc act agt ggc aca caa ggt tca cct cct ggc aca gta acc act caa act ttc gct
A G T S G T Q G S P P G T V T T Q T F A
tcc ggt tgc gcc tat gtg gag caa acc ata acg aat cta aac aac agc atc gct cat ttt
S G C A Y V E Q T I T N L N S I A H F
ggc act caa gag cag cag ata cag caa gct gaa aac atc gct gac act cta gtg aat ttc
G T Q E Q Q I Q Q A E N I A D T L V N F
aaa tct aga tac agc gaa tta ggg aat act tat aac agc atc act act gcg ctc tcc aaa
K S R Y S E L G N T Y N S I T T A L S K
gtc cct aac gcg caa agc ttg caa aac gtg gtg gga aaa aag aat aac ccc tat agc ccg
V P N A Q S L Q N V V G K K N N P Y S P
caa ggc ata gaa acc aat tac tac ttg aat caa aac tct tac aac caa atc caa acc atc
Q G I E T N Y Y L N Q N S Y N Q I Q T I
aac caa gaa tta ggg cgt aac ccc ttt agg aaa gtg ggc atc gtc agt tct caa acc aac
N Q E L G R N P F R K V G I V S S Q T N
aat ggt gcc atg aat ggg atc ggt atc cag gtg ggc tac aag caa ttc ttt ggg caa aaa
N G A M N G I G I Q V G Y K Q F F G Q K
agg aaa tgg ggt gca aga tac tac ggc ttt ttt gat tac aac cat gcg ttc att aaa tcc
R K W G A R Y Y G F F D Y N H A F I K S
agc ttc ttc aac tcg gct tct gac gtg tgg act tat ggt ttt gga gcg gac gct ctt tat
S F F N S A S D V W T Y G F G A D A L Y
aac ttc atc aac gat aaa gcc acc aat ttc tta ggc aaa aac aac aag ctt tct gtg ggg
N F I N D K A T N F L G K N N K L S V G
ctt ttt ggc ggg att gcg tta gcg ggc act tca tgg ctt aat tct gaa tac gtg aat tta
L F G G I A L A G T S W L N S E Y V N L
gcc acc atg aat aac gtc tat aac gct aaa atg aac gtg gcg aac ttc caa ttc tta ttc
A T M N N V Y N A K M N V A N F Q F L F
aac atg gga gtg agg atg aat tta gcc aga tcc aag aaa aaa ggc agc gat cat gcg gct
N M G V R M N L A R S K K G S D H A A
cag cat ggc att gag tta ggg ctt aaa atc ccc acc att aac acg aac tac tat tcc ttt
Q H G I E L G L K I P T I N T N Y Y S F
atg ggg gct gaa ctc aaa tac cgc agg ctc tat agc gtg tat ttg aac tat gtg ttc gct
M G A E L K Y R R L Y S V Y L N Y V F A
tat taa
Y

```

图2 Hp 粘附素 BabA₂的核苷酸序列及其推导出的氨基酸序列.

2.4 生物信息学分析结果 ANTHEPROT V4.3c 软件预测其蛋白质分子量约为 78 kD, Parker 法和 Welling 法分析均显示出了良好的抗原性(图 3, 4).

3 讨论

早在 1996 年, Wadstr et al^[28]推测处在休眠或生长缓慢状态的 Hp 能够与胃黏膜表面和上皮细胞的 Lewis 血型

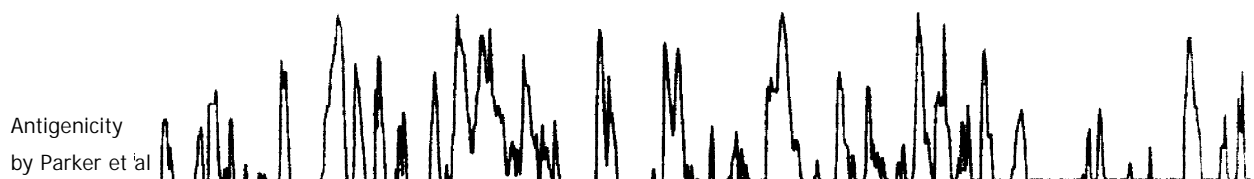


图3 BabA 抗原性的 Parker 法分析.



图4 BabA 抗原性的 Welling 法分析.

抗原相互作用以促进其定植. 之后, Ilver et al^[26]研究了 Lewis 血型抗原中 Le^b 调节 Hp 黏附的作用. 研究显示, 含 Le^b 的可溶性糖蛋白或抗 Le^b 的抗体能抑制 Hp 黏附于胃上皮细胞. 他们进一步采用再标记技术发现并纯化了能与胃黏膜表面 Le^b 特异结合的黏附素 - BabA, M_r 78 kD, 免疫电镜显示其位于细菌表面. I 型和 II 型 Hp 菌株结合 Le^b 的研究显示 CagA 致病岛的存在与 BabA 黏附有关. 亲和实验研究表明 Le^b 与 BabA 的亲和系数约为 $1 \times 10^{10} \text{M}^{-1}$, 即每个细菌结合 Le^b 的分子数约为 500. 另外, 他们检测了 95 株临床分离的 Hp 结合于 ¹²⁵I 标记的血型抗原的能力, 发现 90 % 的 Hp 呈现血型抗原结合能力, 其中 66 % 能与 Le^b 结合. 近来, Bosch et al^[29]调查了应激状态下唾液中硫酸化 Lewis (S-Le) 水平与 Hp 黏附的关系. 结果显示, 随着应激状态下唾液中 S-Le 浓度、分泌量及 S-Le/ 总蛋白比率增加, 唾液介导的 Hp 黏附也增加. 这一结果表明 BabA 及其受体在 Hp 致病机制、特别是在宿主应激状态下 Hp 致病机制中起重要作用.

由于 CagA 致病岛的存在与 BabA 黏附有关且只有 babA₂ 可以表达 BabA^[30-37], 因此本研究选用了黏附性强并含有 CagA 致病岛的 Hpss1 染色体 DNA 为模板, 成功得到了 babA₂ 的基因. 为便于下一步的表达和纯化工作又将其装入了带有组氨酸尾巴的融合表达载体, 酶切鉴定和测序结果显示获得了特异的 Hp 的 babA₂ 基因, 生物信息学分析预测其蛋白质 M_r 78 kD, 并显示出了良好的抗原性, 为重组表达 BabA、研究其黏附功能和免疫保护作用奠定了重要的实验基础.

4 参考文献

- 1 张玲霞, 张沥, 刘永国, 张宁霞, 阎小君, 韩锋产, 侯瑜. 幽门螺杆菌细胞毒素相关蛋白 A 与胃十二指肠溃疡关系的病例对照研究. 世界华人消化杂志 2000;8:733-736

- 2 刘海峰, 刘为纹, 房殿春, 高晋华, 王振华. 幽门螺杆菌诱导胃黏膜上皮细胞凋亡和增生与 p53 基因表达. 世界华人消化杂志 2001;9:1265-1268
- 3 王承党, 黄海辉, 陈玉丽. 幽门螺杆菌感染对消化性溃疡患者胃 G, D 细胞的影响. 世界华人消化杂志 2000;8:847-850
- 4 Hobbles M, Tovey FI. *Helicobacter pylori*: the primary cause of duodenal lceration or a secondary infection? *World J Gastroenterol* 2001;7:149-151
- 5 彭仲生, 梁湛聪, 刘慕嫦, 欧阳能太. 幽门螺杆菌相关胃溃疡的细胞增生与凋亡研究. 世界华人消化杂志 1999;7:218-219
- 6 Vandenplas Y. *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2000;6:20-31
- 7 郭长青, 王玉萍, 刘国永, 马社旺, 丁贯一, 李继昌. 胃黏膜癌变过程中幽门螺杆菌感染与 P53、c-erbB-2 基因表达的研究. 世界华人消化杂志 1999;7:313-315
- 8 刘海峰, 刘为纹, 房殿春, 王国安, 滕小春. 根除幽门螺杆菌对胃癌前病变组织中 bax 蛋白表达的影响. 世界华人消化杂志 2003;11:22-24
- 9 刘海峰, 刘为纹, 房殿春, 王国安, 滕小春. 幽门螺杆菌感染与胃癌前病变演化的关系 2002;10:912-915
- 10 顾金柱, 侯天文, 王晓熙. 幽门螺杆菌致胃黏膜癌前期病变的横断研究. 世界华人消化杂志 2001;9:111
- 11 王东旭, 房殿春, 李为, 杜群先, 刘为纹. 胃幽门螺杆菌感染与抑癌基因失活的关系. 世界华人消化杂志 2001;9:984-987
- 12 陈世耀, 王吉耀, 纪元, 张希德, 朱晴文. 幽门螺杆菌与蛋白激酶 C 在胃癌及癌前病变基因突变中的作用. 世界华人消化杂志 2001;9:302-307
- 13 王普选, 张晓茹, 尹艳芬, 万东君. 中国西部少数民族幽门螺杆菌感染与胃癌发病的流行病学关系. 世界华人消化杂志 2000;8:1444
- 14 何兴祥, 王家马, 吴捷莉, 袁顺玉, 艾莉. 胃黏膜癌变过程中幽门螺杆菌感染与端粒酶活性的表达. 世界华人消化杂志 2000;8:505-508
- 15 全俊, 范学工. 幽门螺杆菌感染与胃癌发生的实验研究进展. 世界华人消化杂志 1999;7:1068-1069
- 16 华杰松. 幽门螺杆菌: 细胞增生和细胞凋亡在胃癌发生中的作用. 世界华人消化杂志 1999;9:647-648
- 17 胡品津. 幽门螺杆菌与胃癌: 研究面临的挑战. 世界华人消化杂志 1999;7:1-2
- 18 Gao HJ, Yu LZ, Bai JF, Peng YS, Sun G, Zhao HL, Miu K, Lü XZ, Zhang XY, Zhao ZQ. Multiple genetic alterations and behavior of cellular biology in gastric cancer and other gastric mucosal lesions: *H pylori* infection, histological types and staging. *World J Gastroenterol* 2000;6:848-854
- 19 庄小强, 林三仁. 幽门螺杆菌与胃癌的研究进展. 世界华人消化杂志 2000;8:206-207
- 20 姚永莉, 张万岱. 幽门螺杆菌与胃癌的关系. 世界华人消化杂志 2001;9:1045-1049

- 21 Bulajic M, Stimec B, Milicevic M, Loehr M, Mueller P, Boricic I, Kovacevic N, Bulajic M. Modalities of testing *Helicobacter pylori* in patients with nonmalignant bile duct diseases. *World J Gastroenterol* 2002;8:301-304
- 22 彭小宁, 范学工, 黄燕, 王志明, 陈永平. 螺杆菌感染与肝癌关系的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:902-906
- 23 姜政, 黄爱龙, 陶小红, 王丕龙. 幽门螺杆菌感染与胃肠外疾病关系的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:706-709
- 24 李侠, 王洪, 郝良纯, 江逊, 张燕, 徐华, 尹燕兰, 刘杰. 儿童厌食伴消瘦与幽门螺杆菌感染的相关性. 世界华人消化杂志 2000;8:255
- 25 Peck B, Ortkamp M, Diehl KD. Conservation, localization and expression of HopZ, a protein involved in adhesion of *Helicobacter pylori*. *Nucleic Acids Res* 1999;16:3325-3333
- 26 Ilver D, Arnqvist A, Ogren J. *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. *Science* 1998;281:373-377
- 27 Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989:35-490
- 28 Wadstr T, Hirno S, Bor T. Biochemical aspects of *Helicobacter pylori* colonization of the human gastric mucosa. *Aliment Pharmacol Ther* 1996;10(Suppl 1):17-27
- 29 Bosch JA, de Geus EJ, Ligtenberg TJ. Salivary MUC5B-mediated adherence (ex vivo) of *Helicobacter pylori* during acute stress. *Psychosom Med* 2000;62:40-49
- 30 姚永莉, 张万岱. 幽门螺杆菌致病因子研究进展. 世界华人消化杂志 2002;10:455-458
- 31 Yamaoka Y, Soucek J, Odenbreit S, Haas R, Arnqvist A, Boren T, Kodama T, Osato MS, Gutierrez O, Kim JG, Graham DY. Discrimination between cases of duodenal ulcer and gastritis on the basis of putative virulence factors of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol* 2002; 6:2244-2246
- 32 Rad R, Gerhard M, Lang R, Schoniger M, Rosch T, Schepp W, Becker I, Wagner H, Prinz C. The *Helicobacter pylori* blood group antigen-binding adhesin facilitates bacterial colonization and augments a nonspecific immune response. *J Immunol* 2002;168:3033-3041
- 33 李娟君, 阎小君, 刘智广, 苏成芝. 幽门螺杆菌细胞毒素相关抗原A的表达纯化及其临床研究. 世界华人消化杂志 2002;10:271-274
- 34 Mizushima T, Sugiyama T, Komatsu Y, Ishizuka J, Kato M, Asaka M. Clinical relevance of the babA2 genotype of *Helicobacter pylori* in Japanese clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2001;39:2463-2465
- 35 Prinz C, Schoniger M, Rad R, Becker I, Keiditsch E, Wagenpfeil S, Classen M, Rosch T, Schepp W, Gerhard M. Key importance of the *Helicobacter pylori* adherence factor blood group antigen binding adhesin during chronic gastric inflammation. *Cancer Res* 2001;61:1903-1909
- 36 Gerhard M, Lehn N, Neumayer N, Boren T, Rad R, Schepp W, Miehke S, Classen M, Prinz C. Clinical relevance of the *Helicobacter pylori* gene for blood-group antigen-binding adhesin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:12778-12783
- 37 江红, 阎小君, 苏成芝, 韩锋产, 冯永强, 侯瑜. 幽门螺杆菌 vac-A 基因毒性相关片段的克隆及序列分析. 世界华人消化杂志 2000; 8:728-733



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

