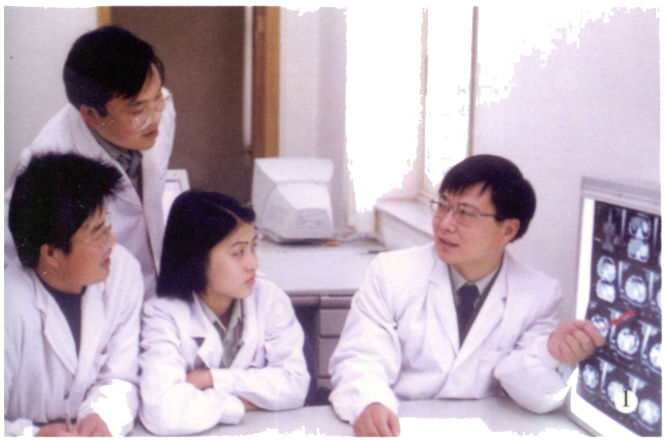
ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

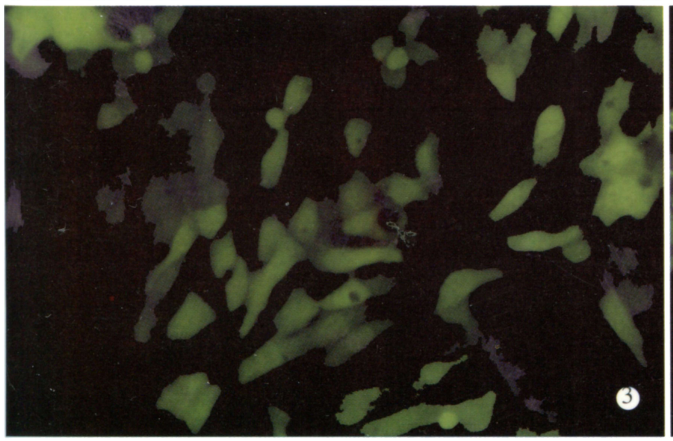
# 世界华人消化杂志®

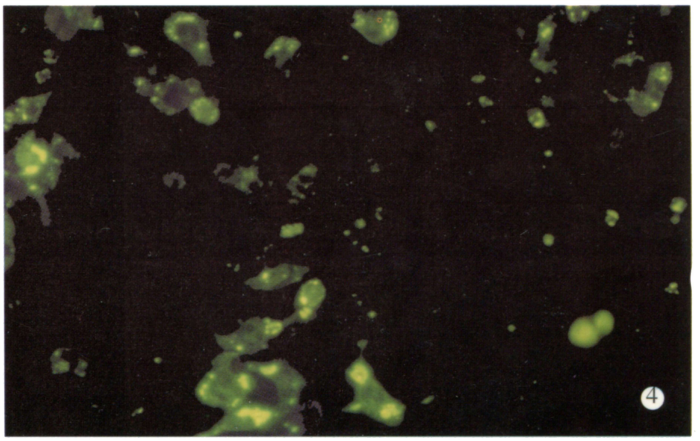
# WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003年4月15日 第11卷 第4期 (Volume 11 Number 4)







4/2003

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. 2001 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 1.445.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 4 月 15 日　第 11 卷　第 4 期（总第 108 期）



| | | |
|---|---|---|
| 述　评 | 373 | 新基因结构与功能研究的策略 成军 |
| 病毒性肝炎 | 378 | 丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白 6 基因和蛋白的生物信息学分析 成军,李克,陆荫英,王琳,刘妍 |
| | 385 | 酵母双杂交技术筛选Hcbp6结合的肝细胞蛋白编码基因 王琳,李克,成军,陆荫英,张健,陈天艳,洪源,刘妍,王刚,钟彦伟 |
| | 389 | 噬菌体表面展示技术筛选 HCBP6 人源单链可变区抗体 钟彦伟,成军,张忠东,孙敏,李强,李克,王琳,李莉,张玲霞,陈菊梅 |
| | 394 | 丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白 6 基因转染肝癌细胞的基因表达谱芯片分析 刘妍,成军,李克,杨倩,陆荫英,王琳,王建军 |
| | 399 | 应用抑制性消减杂交技术克隆丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS3 反式激活的相关基因 牟劲松,刘妍,王刚,成军,段惠娟,李克,陆荫英,王琳,王惠芬 |
| 肝　癌 | 404 | 单克隆抗体 3A5- 复方中药安迪偶联物的肝癌导向治疗 梁军,孙纪元,谢艳华,栗燕,闫露,王四旺 |
| | 408 | 树突状细胞体内外对肝癌细胞的抑制作用 郭建巍,秦力维,蔡美英,吕同德 |
| | 411 | 肝癌组织中 survivin 蛋白表达的意义 陈涛,贾玉容,田伏洲,蔡忠红,李广阔 |
| | 415 | 热休克蛋白 70 与 IL-2 对小鼠肝癌移植模型的治疗比较 傅庆国,沈晓东,孟凡东,郭仁宣 |
| | 419 | 肝癌 DC 疫苗活化的 CTL 对人肝癌裸鼠皮下移植瘤的抑制作用 郭建巍,秦力维,蔡美英 |
| 基础研究 | 422 | HBeAg 肝细胞结合蛋白基因的筛选与克隆 陆荫英,王琳,李克,刘妍,成军,张玲霞 |
| | 426 | 酵母双杂交技术筛选 HBcAg 肝细胞结合蛋白基因 陆荫英,王琳,成军,李克,刘妍,张玲霞 |
| | 430 | 大鼠肝卵圆细胞的生物学特征 陈耀凯,王宇明,李俊刚,郎松 |
| | 434 | 肝硬变大鼠肝部分切除术后残肝 TGF-α、HGF、PCNA 和 IGFBP-1s mRNA 的变化 陈平,李昆,董家鸿,韩本立 |
| | 438 | 细菌内同源重组法构建 HBV S 区和 C 区基因非复制型腺病毒载体及其体外表达 黄呈辉,欧阳玲,马会慧,汤正好,李刚,姚集鲁 |
| | 442 | 大鼠肠巨噬细胞 TNFα 表达及复方大承气汤的影响 陈海龙,王辉,李文利,范琦 |
| | 446 | 家兔回肠淋巴管铸型的扫描电镜研究 滕诚毅,王晓平,魏双艳,王广友,汤凤彩 |
| 焦点论坛 | 450 | 酵母单杂交技术的原理及应用 马守东,洪源,成军 |
| | 451 | 酵母双杂交系统的原理及应用 陈天艳,成军,张树林 |
| | 456 | 抑制性消减杂交技术原理及应用 杨倩,成军,刘妍,王建军,张树林 |
| | 459 | 噬菌体展示技术的原理及应用 张忠东,成军,张树林 |
| | 461 | 基因芯片技术在肝炎病毒研究中的应用 刘妍,成军,王建军,杨倩,陆荫英 |
| | 464 | 丙型肝炎病毒与 JAK-STAT 信号转导系统 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳 |
| | 466 | 丙型肝炎病毒与 MAPK 信号转导系统 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳 |
| | 469 | 肿瘤抑制因子 p21/waf1 与肝炎病毒复制与表达的调节研究 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳 |
| | 472 | 乙型肝炎病毒对细胞信号转导的影响 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳 |
| | 474 | 生物信息学技术与新基因的研究 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳 |
| 研究快报 | 478 | 中药复方肠安泰对肠癌肺转移模型小鼠肠黏膜固有层 B 细胞及 IL-12 的影响 王文萍,王垂杰,姜良铎,饭郷正明 |
| | 481 | 细胞外信号调节激酶在胃癌组织中的表达及其与幽门螺杆菌感染的关系 褚传莲,李延青,张燕,李文婕,赵宪邨 |

| | |
|---|---|
| 研究快报 | 483 实验性肝纤维化形成过程中几种基质金属蛋白酶表达的研究 李保森,游绍莉,赵志海,辛绍杰,赵景民,王松山<br>486 鼠肝移植对胃黏膜损伤的实验研究 褚延魁,马庆久,鲁建国,刘维,何显力,杜锡林,乔庆,王胜智 |
| 临床经验 | 488 重叠丙型肝炎病毒感染在慢性乙型肝炎患者肝脏病变中的作用 商庆华,于建国,徐传镇,肖德明,尹燕明,陈崇兴,张光曙<br>491 正常人胃左静脉的声象图及血流动力学特征 夏建国,董胜翔,李凤华<br>494 手术与非手术治疗重症急性胰腺炎 120 例 金世龙,候庆福,顾红光,王仁云,廖维健 |
| 消息 | 388 欢迎订阅 2003 年度世界华人消化杂志<br>393 欢迎订阅 2003 年度 World Journal of Gastroenterology®<br>398 中国科技期刊走向世界的步伐正在加快<br>403 世界华人消化杂志和 World J Gastroenterol 电子版目次<br>407 提供您使用世界华人消化杂志和 World J Gastroenterol 电子版<br>414 世界华人消化杂志和 WJG 获得商标注册<br>418 美国国立医学图书馆 2002 年度收录中国医学期刊名单<br>425 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<br>433 WJG 搭建我国消化学基础和临床研究惟一国际交流的平台<br>437 世界胃肠病学杂志英文版获得第二届国家期刊奖百种重点期刊<br>477 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊 |
| 征文通知 | 429 第五届上海国际肝癌肝炎会议征文启事<br>480 全国第八届中西医结合普通外科学术研讨会征文通知 |
| 电子版 | 2003 世界华人消化杂志电子版 http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2003.htm<br>2002 世界华人消化杂志电子版 http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2002.htm<br>2001 世界华人消化杂志电子版 http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2001.htm<br>2003 World J Gastroenterol 电子版 http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2003.htm<br>2002 World J Gastroenterol 电子版 http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2002.htm<br>2001 World J Gastroenterol 电子版 http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2001.htm |
| 读者来信 | 493 |
| 封面故事 | 377 中国人民解放军第 302 医院传染病研究所、基因治疗研究中心 |



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 2003-04-15
原刊名 新消化病学杂志



总顾问 陈可冀 张金哲 黄象谦 张学庸 黄志强 赵东海 黎介寿 周殿元 刘耕陶 社长总编辑 马连生 裘法祖 中文编辑 潘伯荣 汤钊猷 王瑾晖 王宝恩 英文编辑 任师颜 危北海 排 版 李少华 吴孟超 校 对 李天华 吴咸中



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(PЖ)》
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 |

# World Chinese Journal of Digestology

**April** 2003 **Contents in Brief** **Volume** 11 **Number** 4

**COMMENTARY**

Strategy in study the structure and function of novel gene
*Cheng J* 373

**VIRAL HEPATITIS**

Bioinformatics analysis of human hepatitis C virus core protein-binding protein 6 gene and protein
*Cheng J, Li K, Lu YY, Wang L, Liu Y* 378

Screening of gene encoding of hepatic proteins interacting with Hcbp6 via yeast two hybridization
*Wang L,Li K,Cheng J, Lu YY, Zhang J,Chen TY, Hong Y, Liu Y, Wang G, Zhong YW* 385

Screen for human single chain variable region in antibody against human hepatitis C virus core protein binding protein 6
*Zhong YW,Cheng J,Zhang ZD,Sun M,Li Q,Li K,Wang L,Li L,Zhang LX, Chen JM* 389

Gene expression profile of HepG2 cell transfected with hepatitis C virus core protein-binding protein 6 gene
*Liu Y, Cheng J, Li K, Yang Q, Lu YY, Wang L, Wang JJ* 394

Cloning of genes transactivated by NS3 protein of HCV with suppressive and subtractive hybridization
*Mu JS,Liu Y,Wang G,Cheng J,Duan HJ,Li K,Lu YY,Wang L,Wang HF* 399

**LIVER CANCER**

Effect of monoclonal antibody 3A5 coupled with Chinese medicine compound Andi in targeted treatment of hepatocellular carcinoma
*Liang J,Sun JY,Xie YH,Li Y,Yan L,Wang SW* 404

Inhibition of dendritic cells against hepatocellular carcinoma *in vitro* and *in vivo*
*Guo JW,Qin LW,Cai MY,Lu TD* 408

Expression of survivin protein in hepatocellular carcinoma tissues and its relationship with clinical pathological features and prognosis.
*Chen T,Jia YR,Tian FZ,Cai ZH,Li GK* 411

Comparison of therapeutic efficacy between tumor-derived heat shock protein 70 and interleukine-2
*Fu QG, Shen XD, Meng FD, Guo RX* 415

Cytotoxic lymphocytes primed by DC based hepatocellular carcinoma vaccine against growth of carcinoma xenograft on nude mice
*Guo JW,Qin LW,Cai MY* 419

**BASIC RESEARCH**

Screening and cloning of gene encoding HBeAg interacting protein in hepatocytes
*Lu YY, Wang L, Li K, Cheng J, Liu Y, Zhang LX* 422

Screening of HBcAg interacting proteins in hepatocytes with yeast-two hybrid technique
*Lu YY, Wang L,Li K, Liu Y, Cheng J, Zhang LX* 426

Biological characteristics of rat hepatic oval cells
*Chen YK, Wang YM, Li JG, Lang S* 430

Changes of TGF-α, HGF, PCNA and IGFBP-1s mRNA after partial hepatectomy in rat liver
*Chen P, Li K, Dong JH, Han BL* 434

Construction of replication-deficient recombinant adenoviral vector carrying HBV S and C region gene by homologous recombination in bacteria and its expression *in vitro*
*Huang CH, Ou-Yang L, Ma HH, Tang ZH, LI G, Yao JL* 438

TNFα expression and effects of Dachengqi Decoctionin compound in gut macrophages
*Chen HL, Wang H,Li WL,Fan Q* 442

Lymphatic corrosion casts in rabbit ileum: scanning electronmicroscopic studies
*Teng CY, Wang XP,Wei SY,Wang GY, Tang FC* 446

**FOCUSED FORUM**

Principle and applications of yeast single hybridization
*Ma SD, Hong Y, Cheng J* 450

Principle of yeast two hybridization and its applications
*Chen TY, Cheng J, Zhang SL* 451

Principle and applications of suppressive and subtractive hybridization technique
*Yang Q, Cheng J, Liu Y, Wang JJ, Wang SL* 456

Principle of phage display technique and its application
*Zhang ZD, Cheng J, Zhong YW, Zhang SL* 459

Gene chip technique in the pathogenesis of viral hepatitis
*Liu Y, Cheng J , Wang JJ, Yang Q, Lu YY* 461

Hepatitis C virus and signal transduction system of JAK-STAT
*Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L* 464

Hepatitis C virus and signal transduction system of MAPK
*Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L* 466

Tumor inhibitive factor p21/waf1 and regulation of replication and expression of hepatitis virus
*Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L* 469

Effect of Hepatitis B virus on cellular signal transduction
*Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L* 472

Study on Bioinformatics and new gene
*Cheng J, Liu Y, Lu YY, Li K, Wang L* 474

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi $
World Chinese Journal of Digestology
Monthly $ $

**Founded** on 15th January, 1993
**Renamed** on 25th January, 1998
**Publication** date 15th April, 2003

Honorary-Editor-in-Chief
Bo-Rong Pan

President and Editor-in-Chief
Lian-Sheng Ma

**ISSN** 1009-3079 **CN**1 4-1260/**R**

**Edited by** Editorial Board of World Chinese Journal of Digestology
P.O.Box 2345, Beijing 100023, China
**Published by** The WJG Press
77, Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
**Overseas Distributor** China International Book Trading Corporation
P.O.Box 399, Beijing 100044, China **Code No**.M4481
**Mail-Order** Circulation Section, The WJG Press
P.O.Box 2345, Beijing 100023, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893
Email: wcjd @ wjgnet.com
http://www.wjgnet.com
**Copyright © 2003 by The WJG Press**

**Indexed/**
**Abstracted by**
Chemical Abstracts
EMBASE/
Excerpta Medica
Abstract Journal

P.O.Box 2345 Beijing 100023, China
Fax: +86-10-85381893
Email: wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

World Chin J Digestol 2003 April;11(4):389-393
世界华人消化杂志 ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R
2003 年版权归世界胃肠病学杂志社



# 噬菌体表面展示技术筛选HCBP6人源单链可变区抗体

钟彦伟,成 军,张忠东,孙 敏,李 强,李 克,王 琳,李 莉,张玲霞,陈菊梅

钟彦伟,成军,张忠东,孙敏,李强,李克,王琳,李莉,张玲霞,陈菊梅,中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心, 全军病毒性肝炎防治研究重点实验室 北京市 100039
钟彦伟,女,1965-11-02,吉林人,副研究员、汉族,硕士,主要从事噬菌体表面展示技术及其应用的研究.
国家自然科学基金资助项目, No.C 39970674, No.C03011402
项目负责人:成军,100039,北京市丰台路26号,中国人民解放军第302医院传染病研究所基因治疗研究中心,全军病毒性肝炎防治研究重点实验室. cj@genetherapy.com.cn
电话:010-66933391 传真:010-63801283
收稿日期:2002-10-29 接受日期:2002-11-28

## Screen for human single chain variable region in antibody against human hepatitis C virus core protein binding protein 6

Yan-Wei Zhong, Jun Cheng,Zhong-Dong Zhang,Min Sun, Qiang Li,Ke Li,Lin Wang,Li Li,Ling-Xia Zhang,Ju-Mei Chen

Yan-Wei Zhong,Jun Cheng, Zhong-Dong Zhang,Min Sun,Qiang Li, Ke Li,Lin Wang,Li Li,Ling-Xia Zhang,Ju-Mei Chen,Gene Therapy Research Center,Institute of Infectious Diseases,The 302 Hospital of PLA,Beijing 100039, China
Supported by the grants from National Natural Scientific Foundation of China, No.C 639970674, No.C03011402
Correspondence to:Jun Cheng,MD,PhD,Professor,Gene Therapy Research Center,Institute of Infectious Diseases,The 302 Hospital of PLA,Beijing 100039,China. cj@genetherapy.com.cn
Received:2002-10-29 Accepted:2002-11-28

### Abstract

AIM:To screen human single chain variable fragment (scFv) in antibody against hepatitis C virus (HCV) core protein-binding protein 6 (HCBP6) by phage display technique to determine HCBP6 in human liver tissue.

METHODS:The semisynthetic phage antibody library was panned by HCBP6 peptide which was coated on a microtiter plate,after five rounds of bio-panning,48 clones specific for HCBP6 were determined with the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The specificity of HCBP6 scFv was identified by ELISA,cross reaction with bovine serum albumin (BSA) and competition inhibition assay. The DNA sequence of the positive clone was determined.

RESULTS:Specific phage antibody against HCBP6 was enriched by 162 times after five rounds of panning with HCBP6 peptide. Binding activities of 48 clones with HCBP6 peptide were determined by ELISA,and the results indicated that 30 clones could bind to HCBP6 peptide, 7 clones had low absorbance value at A450 nm; Direct and competition inhibition ELISA showed that one clone named P24, exhibited specific binding to HCBP6 peptide. Data of DNA sequence showed that the scFv gene encoded 771 bp.

CONCLUSION:The scFv fragments to HCBP6 can be successfully selected by phage display technique,which paves a way for study of distribution of HCBP6 in human liver tissues.

Zhong YW,Cheng J,Zhang ZD,Sun M,Li Q,Li K,Wang L,Li L,Zhang LX,Chen JM. Screen for human single chain variable region in antibody against human hepatitis C virus core protein binding protein 6. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2002;11(4):389-393

### 摘要

目的:制备丙型肝炎病毒(HCV)核心蛋白的肝细胞结合蛋白6(HCBP6)的特异性人源化单链可变区抗体(scFv).

方法:采用噬菌体表面展示技术，将生物合成的应用酵母双杂交技术筛选得到的HCV核心蛋白的肝细胞结合蛋白6(HCBP6)16肽固相包被于Nunc板，从噬菌体单链可变区抗体库中经过5轮“黏附-洗脱-扩增”筛选过程，随机挑选出48个克隆，利用酶联免疫黏附法(ELISA)、交叉反应和竞争抑制实验，对其进行免疫学检测，获得与HCBP6结合活性较强的单链可变区抗体片段的阳性克隆，并对HCBP6特异性scFv的编码序列进行序列测定分析.

结果:对噬菌体单链可变区抗体库经过5轮“黏附-洗脱-扩增”的筛选后，结合到包被平皿的噬菌体与第一轮相比，富集了162倍. 用酶联免疫黏附法测定第5轮筛选后上清液中含有的噬菌体抗体与HCBP6结合活性. 其中有30株克隆ELISA的吸光度(A450 nm)值较高(P8 nm 0.77，P24 0.714， P26 0.728， P29 0.723，P38 0.803，P39 0.762，P43 0.747等). 对这些噬菌体抗体进行与牛血清白蛋白(BSA)的交叉反应后，确定其中有7株交叉反应较弱(P8 0.145，P24 0.119， P26 0.17， P29 0.186，P38 0.118，P39 0.138，P43 0.178)，结合2次ELISA重复实验的A值及竞争抑制实验结果，最后确定1株(P24)阳性克隆.提取质粒，SfiI/NotI双酶切后，将片段亚克隆到pCANTAB5E载体，进行DNA序列测定，DNA大小为771 bp，符合人源化单链可变区抗体典型的骨架区(FR)及互补决定区(CDR)的序列结构.

结论:用噬菌体抗体库技术能够成功地获得HCBP6的scFv.

钟彦伟,成军,张忠东,孙敏,李强,李克,王琳,李莉,张玲霞,陈菊梅. 噬菌体表面展示技术筛选HCBP6人源单链可变区抗体. 世界华人消化杂志 2003;11(4):389-393
http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/389.htm

## 0 引言

研究新基因的结构和功能是目前分子生物学研究领域中的热门课题[1,2]. 随着人类基因组计划的完成，大量新基因的功能研究工作迫在眉睫. 在病毒性肝炎研究领域，有关HCV与肝细胞之间如何相互作用、丙型肝炎病毒(HCV)能与肝细胞中哪种蛋白结合? 这种结合蛋白在肝细胞中的分布如何? 目前我们还知之甚少. 其中一种有效的研究方法，就是利用生物信息学技术对新基因编码产物的抗原位点进行预测，以合成的抗原多肽对人源单链可变区抗体(scFv)的噬菌体文库进行筛选，再以获得的scFv抗体进行研究. 噬菌体表面展示技术是近年来出现的一种新技术，其原理是将外源蛋白基因通过与丝状噬菌体外壳蛋白基因融合而将外源蛋白表达在噬菌体颗粒的表面，该技术将噬菌体表面表达蛋白的表型和其编码基因的克隆化结合在一起，将识别相应抗原和进行再扩增的能力结合起来，不需免疫动物，绕过杂交瘤，可以在不知道抗原结构和功能的情况下，仅仅经过几轮黏附 - 洗脱 - 扩增的筛选过程，筛选得到该抗原特异性的单链抗体. 该抗体可以作为一种新的诊断试剂，检测该抗原在肝细胞中的分布. 本实验我们利用噬菌体表面展示技术筛选获得了与HCBP6结合活性较强的单链可变区抗体.

## 1 材料和方法

1.1 材料 HCBP6蛋白生物信息学技术预测抗原表位的16肽由北京赛百胜生物工程公司合成. 人源化噬菌体抗体文库为轻链可变区和重链可变区经甘氨酸接头$(Gly_4Ser)_3$连接的抗体文库[3-24]. 辅助噬菌体M13K07购于Pharmacia公司，Wizard质粒DNA提取纯化试剂盒购于Promega公司. 其他试剂均为国产分析纯.

1.2方法 (1)特异性HCBP6单链可变区抗体的筛选:将噬菌体抗体库细胞接种于50 mL 2 TY培养基中，摇至A600 nm值为0.5时，加入辅助噬菌体M13K07，37 ℃静置30 min，4 ℃ 5 000 r/min离心10 min，将沉淀转入2TY(Amp/kan)培养基中，30 ℃振摇过夜. 细菌培养液离心后，取上清，用200 g/L PEG沉淀浓缩噬菌体. 用HCBP6多肽(20 mg/L)包被Nunc培养板，包被液为0.05 mol/L $NaHCO_3$，pH 9.6缓冲液，4 ℃过夜. 以小牛血清白蛋白(BSA) 37 ℃封闭2 h后加入浓缩的噬菌体，室温90 min，用PBST和PBS各快速洗涤20次，以0.1 mol/L三乙胺洗脱已黏附在平皿上的噬菌体，然后用1 mol/L Tris(pH 7.4)中和，再感染对数生长期的大肠杆菌受体菌TG1，培养扩增使表达HCBP6特异性scFv的噬菌粒得到富集. 继续重复5次上述“黏附、洗脱、扩增”过程[5,6]. (2)单链可变区抗体阳性克隆的鉴定:将最后一轮筛选得到的重组菌涂平皿，从中随机挑选48株单克隆菌株，置于2 × TY(氨苄青霉素100 mg/L，10 g/L葡萄糖)中，37 ℃培养过夜. 加入辅助噬菌体M13K07浸染后，30 ℃培养过夜. 上清液用于酶联免疫黏附法(ELISA)检测. 50 μL噬菌体上清与等体积20 g/L PBS/BSA混合后，加入到包被有HCBP6的ELISA板中，37 ℃孵育1 h，0.5 g/L PBS/Tween洗5次，然后加入1∶5 000稀释的HRP-兔抗M13，37 ℃孵育1 h，TMB (3，3，5， 5，-四甲基联苯胺)为底物显色. 对筛选得到的阳性克隆重复ELISA检测过程. 由于在筛选过程中，有BSA参与，因而从理论上来讲有可能筛选到BSA特异性的单链可变区抗体. 因此又以BSA作为包被抗原，结合与BSA的交叉反应情况，确定7株与BSA交叉反应较弱的阳性克隆进行竞争抑制实验，最后选定一个阳性克隆提取质粒，进行DNA序列测定. (3)竞争抑制实验:10 μL噬菌体上清与等体积的以20 g/L PBS/BSA稀释的2 μg/mL HCBP6混匀，于37 ℃孵育30 min. 加入到包被有HCBP6 (0.2 μg/mL)的ELISA板中，37 ℃孵育1 h，0.5 g/L PBS/Tween洗5次，然后加入1∶5 000稀释的HRP-兔抗M13，37 ℃孵育1 h，M13K07为阴性对照，TMB为底物显色. (4)阳性克隆株DNA序列测定:对筛选得到的阳性克隆菌株按照Wizard质粒DNA纯化试剂盒方法提取质粒，经SfiI/NotI酶切鉴定后，亚克隆到pCANTAB5E载体，采用双脱氧末端终止法，由大连宝生物工程公司(ABI 377型自动测序仪)进行DNA序列测定.

## 2 结果

2.1 HCBP6特异性人源化单链可变区抗体的筛选 以HCBP6抗原多肽作为固相化的抗原，对噬菌体单链可变区抗体库进行5轮“黏附 - 洗脱 - 扩增”的筛选. 单链可变区抗体特异性噬菌粒的富集结果见表1. 随着淘洗次数的增加，从固相平板洗脱下来的噬菌粒数显示了增加的趋势，在第5轮筛选后结合到包被HCBP6抗原平皿的噬菌体与第一轮相比，富集了162倍(富集倍数 = 第5轮产出率 / 第1轮产出率).

表1 亲和黏附筛选对噬菌体抗体的富集

| 筛选次数 | 噬菌粒数 | | 产出率 |
|---|---|---|---|
| | 投入 | 捕获 | |
| 第1轮 | $4.5 \times 10^9$ | $1.2 \times 10^7$ | 0.26 % |
| 第2轮 | $2.0 \times 10^9$ | $1.8 \times 10^8$ | 9.0 % |
| 第3轮 | $1.5 \times 10^9$ | $1.1 \times 10^8$ | 7.3 % |
| 第4轮 | $7.2 \times 10^8$ | $2.5 \times 10^8$ | 35.0 % |
| 第5轮 | $6.0 \times 10^8$ | $2.5 \times 10^8$ | 42.0 % |

产出率 = 捕获的噬菌体数量 / 所用的噬菌体数量

2.2 对HCBP6单链可变区抗体的鉴定 从第5轮筛选后得到的菌落中随机挑选48个克隆，用ELISA方法测定上清液中含有的scFv与HCBP6的结合活性. 其中有30株上清ELISA的吸光度A450 nm值较高(P8 0.77，P24 0.714，P26 0.728，P29 0.723，P38 0.803，P39 0.762，P43 0.747等). 对这些噬菌体抗体进行与牛血清白蛋白(BSA)的交叉反应后，确定其中有7株交叉反应较弱

(P8 0.145，P24 0.119，P26 0.17，P29 0.186，P38 0.118，P39 0.138，P43 0.178) (图 1).

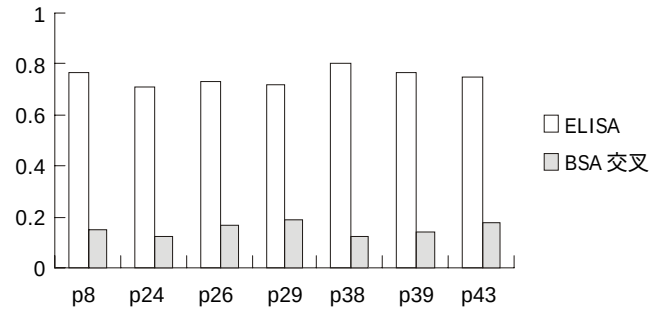



图 1 阳性克隆的 ELISA 及与 BSA 的交叉反应结果.

2.3 HCBP6 特异性 scFv 阳性克隆株竞争抑制实验及 DNA 序列测定 对筛选得到的阳性克隆取 10 μL 噬菌体上清进行竞争抑制实验，其中P24克隆抑制前 $A$450 nm 值为 0.526 ± 0.02， 抑制后 $A$450 nm 值为 0.172 ± 0.01，根据抑制率公式: 抑制率 =(抑制前 $A$450 nm - 抑制后 $A$450 nm)/ 抑制前 $A$450 nm × 100 %， 得出 P24 克隆抑制率为 67.3 %(图 2). 用此菌株提取质粒，进行 DNA 序列测定，DNA 大小为 771 bp. HCBP6 特异性 scFv 编码基因的核苷酸和编码产物的序列如图 3 所示.

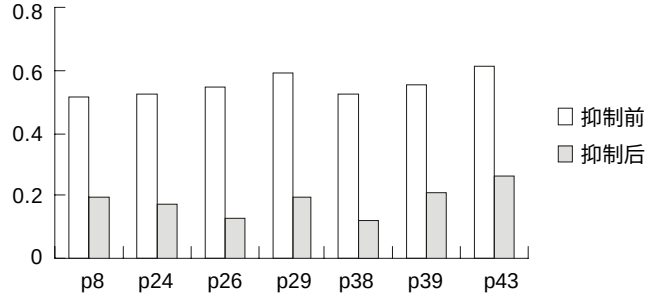



图 2 阳性克隆的竞争抑制实验结果.

heavy chain

```
1    ATG GCC CAG GTG CAG CTC GTG CAG TCT GGG GCT GAG
       M  A  Q  V  Q  L  V  Q  S  G  A  E
     GTG AAG AAG CCT GGG GCC TCA GTG AAG GTT TCC TGC
       V  K  K  P  G  A  S  V  K  V  S  C
49   AAG GCT TCT GGA TAC ACC TTC ACT AGC TAT GCT ATG
       K  A  S  G  Y  T  F  T  S  Y  A  M
97                                    CDR1
     CAT TGG GTG CGC CAG GCC CCC GGA CAA AGG CTT GAG
       H  W  V  R  Q  A  P  G  Q  R  L  E
145  TGG ATG GGA TGG ATC AAC GCT GGC AAT GGT AAC ACA
       W  M  G  W  I  N  A  G  N  G  N  T
                                       CDR2
     AAA TAT TCA CAG AAG TTC CAG GGC AGA GTC ACC ATT
       K  Y  S  Q  K  F  Q  G  R  V  T  I
193  ACC AGG GAC ACA TCC GCG AGC ACA GCC TAC ATG GAG
       T  R  D  T  S  A  S  T  A  Y  M  E
241  CTG AGC AGC CTG AGG TCT GAA GAC ACG GCC GTG TAT
       L  S  S  L  R  S  E  D  T  A  V  Y
289  TAC TGT GCA AGA AGT CGT AGG AAT TGG GGC CAA GGT
       Y  C  A  R  S  R  R  N  W  G  Q  G
                                       CDR3
     ACC CTG GTC ACC GTG TCG AGA GGT GGA GGC GGT TCA
       T  L  V  T  V  S  R  G  G  G  G  S
337  GGC GGA GGT GGC TCT GGC GGT GGC GGA TCG TCT GAG
       G  G  G  G  S  G  G  G  G  S  S  E
385  CTG ACT CAG GAC CCT GCT GTG TCT GTG GCC TTG GGA
       L  T  Q  D  P  A  V  S  V  A  L  G
433  CAG ACA GTC AGG ATC ACA TGC CAA GGA GAC AGC CTC
       Q  T  V  R  I  T  C  Q  G  D  S  L
                                    CDR1
     AGA AGC TAT TAT GCA AGC TGG TAC CAG CAG AAG CCA
       R  S  Y  Y  A  S  W  Y  Q  Q  K  P
481  GGA CAG GCC CCT GTA CTT GTC ATC TAT GGT AAA AAC
       G  Q  A  P  V  L  V  I  Y  G  K  N
                                       CDR2
529  AAC CGG CCC TCA GGG ATC CCA GAC CGA TTC TCT GGC
       N  R  P  S  G  I  P  D  R  F  S  G
577  TCC AGC TCA GGA AAC ACA GCT TCC TTG ACC ATC ACT
       S  S  S  G  N  T  A  S  L  T  I  T
     GGG GCT CAG GCG GAA GAT GAG GCT GAC TAT TAC TGT
       G  A  Q  A  E  D  E  A  D  Y  Y  C
625  AAC TCC CGG GAC AGC AGT GGT AAC CAT GTG GTA TTC
       N  S  R  D  S  S  G  N  H  V  V  F
                                    CDR3
673  GGC GGA GGG ACC AAG CTG ACC GTC CTA GGT GCG GCC
       G  G  G  T  K  L  T  V  L  G  A  A
721  GCA GGT GCG CCG GTG CCG TAT CCG GAT CCG CTG GAA
       A  G  A  P  V  P  Y  P  D  P  L  E
     CCG CGT GCC GCA TAG
       P  R  A  A  *
```

Light chain

图 3 HCBP6 特异性 scFv 的基因序列及编码产物.

## 3 讨论

丙型肝炎病毒是输血后肝炎的重要病原体[25,26]. 全世界有大约 1.7 亿人患丙型肝炎. 但是只有 20-30 % 的患者对干扰素 α (IFN α)敏感. 而且 HCV 的持续感染与肝硬化和肝细胞癌有着密切的关系. 最近的研究显示 HCV 基因组编码的核心蛋白除了与 HCV RNA 结合，保护 HCV RNA 免受 RNA 酶的消化，维持 HCV RNA 的稳定性之外，还具有一系列不同的生物学调节作用[27-37]. HCV 核心蛋白作为一种反式激活蛋白，对于感染的肝细胞中基因表达谱产生影响，同时，HCV 核心蛋白自身结合形成同二聚体结构，也可以与肝细胞中其他类型的蛋白之间进行结合，形成异二聚体、多聚体结构，对肝细胞中的信号转导产生严重干扰. 通过这些生物学作用，对肝细胞的细胞凋亡、细胞周期进行调节，从而参与 HCV 感染的发病机制.

HCV 核心蛋白位于病毒多肽的氨基末端，被宿主的信号肽酶切割后产生. 此蛋白被认为是病毒的核壳蛋白，与其他的 HCV 结构与非结构蛋白相比，其氨基酸序列高度保守. 核心蛋白高度碱性，无糖基化位点. 目前的报道表明HCV 核心蛋白可以结合病毒本身及细胞内的蛋白质. 除形成同二聚体、多聚体，还与 E1 蛋白形成异二聚体复合物. 这些复合体的形成可能对HCV 形态发生有重要作用[38-50]. 另外核心蛋白结合细胞蛋白

包括载脂蛋白AII、肿瘤坏死因子受体-1(TNFR-1)、淋巴毒素-β受体(LTβ-R)，对细胞的信号转导、宿主的免疫起调节作用，并影响细胞的凋亡信号. 还有研究证实HCV核心蛋白可反式调节病毒及细胞的一些基因的转录. 最近的研究表明表达HCV核心蛋白的转基因鼠不仅引起肝脂肪变性而且引起肝癌. 所以HCV核心蛋白是多功能蛋白，在HCV发病机制中起重要作用.

为了研究HCV核心蛋白能与肝细胞中哪种蛋白结合? 这种结合蛋白在肝细胞中的分布如何? 本实验室在以前的工作中采用酵母双杂交技术，以HCV核心蛋白作为“诱饵”，对于肝细胞cDNA文库进行酵母双杂交筛选，获得了一些与HCV核心蛋白结合的肝细胞中的蛋白的编码基因，其中包括功能未知基因6号，命名为HCV核心蛋白结合蛋白6(HCBP6). 为了研究该蛋白合成的抗原多肽在肝组织的分布，我们利用噬菌体展示技术筛选得到了HCBP6的scFv. 本实验我们以HCBP6包被的固相抗原在第5轮筛选后，使结合HCBP6的噬菌粒富集了162倍. 实验表明从噬菌体抗体库中筛选出的HCBP6 scFv，具有较强的结合活性，且该方法具有简便、快速、经济等特点，避免了利用杂交瘤技术制备该抗体周期长、尤其是需要免疫动物等缺陷. ELISA和竞争抑制实验结果表明筛选得到的HCBP6 scFv具有较高的结合活性和较好的特异性. 本实验结果为开展用HCBP6-scFv检测HCBP6在肝细胞中的分布情况创造了条件.

## 4 参考文献


1 Lahm A,Yagnik A,Tramontano A,Koch U. Hepatitis C virus proteins as targets for drug development: the role of bioinformatics and modelling. *Curr Drug Targets* 2002;3:281-296
2 Walewski JL,Gutierrez JA,Branch-Elliman W,Stump DD,Keller TR, Rodriguez A, Benson G,Branch AD. Mutation Master: profiles of substitutions in hepatitis C virus RNA of the core:alternate reading frame,and NS2 coding regions. *RNA* 2002; 8:557-571
3 钟彦伟,成军. 体外突变提高单链抗体亲和力的研究进展. 国外医学流行病学传染病学分册 1999;26:100-102
4 钟彦伟,成军,刘妍,董菁,杨继珍,张玲霞. 可溶性HCV非结构蛋白NS3人源单链抗体在大肠杆菌中的表达. 肝脏 1999;4:73-76
5 钟彦伟,成军,刘妍,董菁,杨继珍,张玲霞. HCV非结构蛋白NS3人源单链抗体的筛选与鉴定. 中华传染病杂志 2000;18:84-87
6 钟彦伟,成军,刘妍,董菁,杨继珍,张玲霞. 丙型肝炎病毒NS3蛋白人源基因工程单链抗体的高效表达. 中华肝脏病杂志 2000;8:171-173
7 钟彦伟,成军,施双双,夏小兵,王刚,杨继珍,陈菊梅. 丙型肝炎病毒非结构蛋白NS4A人源单链抗体的筛选与鉴定.免疫学杂志 2000;16:422-424
8 钟彦伟,成军,施双双,杨继珍,董菁,夏小兵,李克,刘妍,陈菊梅. 丙型肝炎病毒非结构蛋白NS5A人源单链抗体的筛选与表达. 中华中西医杂志 2001;2:97-99
9 钟彦伟,王松山,赵景民,成军,张玲霞. 抗丙肝病毒非结构蛋白NS3单链抗体的制备及免疫组织化学研究. 中华实验与临床病毒学杂志 2001;15:186-188
10 钟彦伟,成军,施双双,董菁,夏小兵,刘妍,李克,杨继珍. 抗HBsAg人源单链抗体的筛选与可溶性抗体的表达. 中国病毒学 2001;16:105-108
11 钟彦伟,成军,施双双,夏小兵,王刚,杨继珍,陈菊梅. 丙型肝炎病毒核心蛋白人源单链可变区抗体的筛选与鉴定.中华肝脏病杂志 2001;9:217-219
12 钟彦伟,成军,王刚,田小军,陈新华,李莉,陈菊梅,张玲霞. 乙型肝炎病毒核心抗原人源单链可变区抗体的筛选与鉴定. 中国公共卫生 2002;18:153-154
13 钟彦伟,成军,王刚,陈新华,李克,李莉,陈菊梅. 乙肝病毒核心蛋白人源单链抗体在大肠杆菌中的表达. 免疫学杂志 2002;18:85-88
14 钟彦伟,成军,王刚,洪源,陈菊梅. 肝炎病毒基因工程抗体研究进展. 世界华人消化杂志 2002;10:219-221
15 钟彦伟,成军,陈新华,王刚,洪源,王琳,李莉,张玲霞,陈菊梅. 应用噬菌体表面展示技术筛选丙型肝炎病毒NS5A抗原模拟表位. 世界华人消化杂志 2002;10:133-136
16 钟彦伟,成军,施双双,王刚,夏小兵,田小军,李莉,张玲霞. 抗丙肝病毒包膜蛋白E2人源单链抗体的制备及免疫组织化学研究. 中华肝脏病杂志 2002;10:109-112
17 钟彦伟,成军,陈新华,王刚,洪源,王琳,李莉,张玲霞,陈菊梅. 丙型肝炎病毒非结构蛋白NS4A抗原模拟表位的筛选和鉴定. 免疫学杂志 2002;18:42-45
18 钟彦伟,成军,田小军,陈新华,李莉,张玲霞,陈菊梅. 丙型肝炎病毒非结构蛋白NS5A抗原模拟表位的筛选与鉴定. 中华肝脏病杂志 2002;10:266-268
19 钟彦伟,成军,施双双,赵景民,王刚,夏小兵,田小军,李莉,张玲霞. HBsAg人源噬菌体单链抗体的筛选及其在临床治疗和诊断中的应用. 中华实验和临床病毒学杂志 2002;16:223-225
20 钟彦伟,成军,蔡炯,王刚,洪源,王琳,李莉,张玲霞,陈菊梅. 丙型肝炎病毒包膜蛋白E2抗独特型人源化单链可变区抗体的筛选与鉴定. 世界华人消化杂志 2002;10:897-901
21 钟彦伟,成军,陈新华,王刚,洪源,王琳,李莉,张玲霞,陈菊梅. 应用噬菌体随机肽库技术筛选丙肝病毒NS3抗原模拟表位. 中国病毒学 2002; 17:202-205
22 Zhong YW,Cheng J,Wang G,Shi SS,Zhang LX,Li L,Chen JM. The preparation of human single chain Fv antibody against hepatitis C virus E2 protein and its identification in immunohistochemistry. *World J Gastroenterol* 2002;8:863-867
23 成军,杨守纯. 现代肝炎病毒分子生物学.第1版. 北京:人民军医出版社, 1997:213-220
24 成军. 病毒性肝炎的分子发病机制. 临床肝胆病杂志 2001;17(增刊):31-35
25 成军. 慢性病毒性肝炎发病机制的分子生物学研究进展. 世界华人消化杂志 2002;10:125-128
26 Cheng J. Molecular pathogenesis of viral hepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;16(Suppl):A185
27 李克,王琳,成军,陆荫英,洪源,刘妍,张玲霞. 丙型肝炎病毒蛋白结合蛋白. 世界华人消化杂志 2002;10:215-217
28 成军,陈菊梅. 丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白的研究进展. 国外医学病毒学分册 2000;7:123-127
29 成军,张玲霞. CD81分子的生物学功能. 国外医学免疫学分册 2000;23:322-324
30 成军,朱传琳. 肝炎病毒对双链RNA激酶PKR的调节作用. 国外医学微生物学分册 2000;23:1-3
31 成军,朱传琳. 丙型肝炎病毒感染慢性化的分子生物学机制. 国外医学病毒学分册 2000;7:29-32
32 成军. 丙型肝炎病毒基因组的翻译及其产物的加工. 国外医学微生物学分册 1995;18:14-16
33 李克,王琳,成军,张玲霞,段惠娟,陆荫英,杨继珍,刘妍,洪源,夏小兵,王刚,董菁,李莉,钟彦伟,陈菊梅. 酵母双杂交技术筛选克隆HCV核心蛋白结合蛋白基因1. 世界华人消化杂志 2001;9:1379-1383
34 成军,陈菊梅. 丙型肝炎病毒5’-非翻译区及其结合蛋白的研究进展. 国外医学微生物学分册 2001;24:7-9
35 成军,李克,陆荫英,董菁,李莉,王琳,钟彦伟. 丙型肝炎病毒调节基因区结合蛋白的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:223-225
36 李克,王琳,成军,陆荫英,张玲霞,牟劲松,洪源,刘妍,段惠娟,王刚,李莉,陈菊梅. 丙型肝炎病毒核心蛋白与染色体转位蛋白的相互作用. 中华医学杂志 2002;82:673-677
37 成军,任进余,李莉,陆志檬,李克,洪源,陆荫英,王刚,刘妍,张玲霞,陈菊梅. 丙型肝炎病毒结构基因转基因小鼠引起肝脏脂肪变. 世界华人消化杂志 2002;10:1022-1026
38 李克,王琳,成军,张玲霞,陆荫英,夏小兵,李莉,杨继珍. 丙型肝炎病毒核心蛋白基因表达载体的构建及在酵母中的表达. 军医进修学院学报 2002;23:1-3
39 李克,王琳,成军,张玲霞,陆荫英,李莉,刘妍,段惠娟. 丙型肝炎病毒NS2基因酵母双杂交“饵”载体构建及表达. 世界华人消化杂志 2002;10:129-132
40 王琳,李克,成军,陆荫英,王刚,刘妍,钟彦伟,段惠娟,洪源. 筛选与克隆肝再生增强因子结合的蛋白基因. 世界华人消化杂志 2002;10:161-164
41 Husmeier D,Wright F. A Bayesian approach to discriminate between alternative DNA sequence segmentations. *Bioinformatics* 2002;18:226-234
42 Kernebeck T,Lohse AW,Grotzinger J. A bioinformatical approach suggests the function of the autoimmune hepatitis target antigen

soluble liver antigen / liver pancreas. *Hepatology* 2001;34:230-233
43 Husmeier D,Wright F. Probabilistic divergence measures for detecting interspecies recombination. *Bioinformatics* 2001;17 (Suppl 1): S123-S131
44 Klinck R,Westhof E,Walker S,Afshar M,Collier A,Aboul-Ela F. A potential RNA drug target in the hepatitis C virus internal ribosomal entry site. *RNA* 2000;6:1423-1431
45 Cheng J. Progress in gene therapy for liver diseases. *J Gastroenterol Hepatol* 1999;14(Suppl):A261-A262
46 成军,陈菊梅. 丙型肝炎病毒 NS5A 蛋白的生物学调节作用. 国外医学微生物学分册 2001;24:12-14
47 成军,陈菊梅. 丙型肝炎病毒 3’- 非翻译区 RNA 结合蛋白的研究进展. 国外医学病毒学分册 2000;7:17-21
48 成军,施双双,钟彦伟,夏小兵,王刚,王琳,刘妍,陈菊梅. 丙型肝炎病毒核心蛋白可溶性单链可变区抗体在大肠杆菌中的表达. 解放军医学杂志 2000;25:394-397
49 李克,张玲霞,成军. 丙型肝炎病毒与脂质系统代谢关系的研究进展. 国外医学病毒学分册 2002;9:1-3
50 成军,李莉,张玲霞,陈菊梅. 丙型肝炎病毒感染与脂类代谢的相关性. 肝脏 2002;7:56-58

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2003 年版权归世界胃肠病学杂志社

**• 消 息 •**

# 欢迎订阅 2003 年度 World Journal of Gastroenterology®

本刊讯 美国科学情报研究所（ISI),2001 年《期刊引用报告》(Journal Citation Reports ,JCR®）报道我国科技期刊 59 种，其中包括医学领域 3 种，分别为 WJG® 影响因子 1.445,中国药理学报英文版影响因子 0.631，中华医学杂志英文版影响因子 0.108. Science Citation Index- Expanded (SCI-E®)收录世界领先的胃肠病学和肝病学杂志 44 种，其中包括 WJG® .Current Contents/Clinical Medicine®(即时目次 / 临床医学)收录世界领先的 1130 种期刊和书所登载的文章,社论,会议摘要,评论及其他重要信息的完整的书刊目次信息.其中收录世界领先的胃肠病学和肝病学杂志 36 种,其中包括 WJG®.Clinical Medicine Citation Index ® 收录世界领先的胃肠病学和肝病学杂志 43 种, 其中包括 WJG®. WJG® 由 122 位胃肠病学者组成的编委会，分布在 65 个国家和地区，其中包括 53 个国家的胃肠病学会主席.53 个国家和地区胃肠病学会为 WJG® 的合作伙伴.WJG® 被美国《医学索引(*Index Medicus* /MEDLINE)、 美国《化学文摘》 (Chemical Abstracts,CA)、荷兰《医学文摘库 / 医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica，EM)》和俄罗斯《文摘杂志》(Abstract Journal，AJ) 收录.国内被中国科学引文索引,中国科技论文统计与分析,世界消化学网数据库, 国家级火炬计划项目中国学术期刊综合评价数据库来源期刊.WJG®，1999 年度，2000 年度，2001 年度被评为山西省一级期刊.中华人民共和国科学技术部，国科发财字[2001]340 号文件 2001-09-10 关于公布科技期刊方阵名单的通知.按照期刊方阵入选要求和比例，经部门推荐、专家评审，最终从推荐名单中选出科技期刊 716 种进入中国期刊方阵，其中“双高”期刊 40 种，“双奖”期刊 58 种，“双百”期刊 122 种，“双效”期刊 496 种. WJG® 在众多消化类期刊中唯一进入双百期刊行列. 中国科技信息研究所信息分析研究中心期刊检索报告：2001 年 WJG® 总被引频次 1844，影响因子 2.92，即年指标 0.694，他引总引比 0.52，地区分布数 20，基金和资助论文比例 0.549，海外作者论文数 0.353，指标综合加权评分 57.268.WJG® 2003 年月刊，大 16 开，256 页 / 期，定价 50.00 元 / 期，邮发代号 82-261.E-mail: wjg@wjgnet.com http://www.wjgnet.com

(世界胃肠病学杂志社 2002-10-18)

Baishideng®

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

© 2018 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.