

乙型肝炎病毒表面抗原基因启动子 I 结合蛋白1的基因克隆化研究

洪源, 成军

洪源, 成军, 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
洪源, 男, 1974-12生, 汉族, 福建省莆田市人, 医师. 1998年毕业于第四军医大学军医系, 获医学学士学位, 2003年毕业于解放军军医进修学院, 获内科学硕士学位, 主要课题方向是肝炎病毒与肝细胞相互作用的分子生物学机制. 国家自然科学基金攻关项目, No. C03011402, No. C30070689
军队“九、五”科技攻关项目, No. 98D063
军队回国留学人员启动基金项目, No. 98H038
军队“十、五”科技攻关青年基金项目, No. 01Q138
军队“十、五”科技攻关面上项目, No. 01MB135
项目负责人: 成军, 100039, 北京市西四环中路100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. cj@genetherapy.com.cn
电话: 010-66933391 传真: 010-63801283
收稿日期: 2003-06-25 接受日期: 2003-07-16

Cloning of the gene of preS1 promoter of hepatitis B virus specific DNA-binding protein 1

Yuan Hong, Jun Cheng

Yuan Hong, Jun Cheng, Gene Therapy Research Center, Institute of Infectious Diseases, 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China
Correspondence to: Dr. Jun Cheng, Gene Therapy Research Center, Institute of Infectious Diseases, 302 Hospital of PLA, 100 Xisihuanzhong Road, Beijing 100039, China. cj@genetherapy.com.cn
Received: 2003-06-25 Accepted: 2003-07-16

Abstract

AIM: To identify the protein which has unknown function binding with the preS1 promoter of hepatitis B virus, and to clone its coding sequence.

METHODS: Yeast one-hybrid system was employed to screen a human liver cDNA library using 3 copies of SP I core sequence as a bait, and one unknown gene was obtained. The coding sequence of the preS1 promoter of hepatitis B virus specific DNA-binding protein 1 (SBP I) was cloned by bioinformatics methods.

RESULTS: The coding sequence of SBP1 was cloned successfully.

CONCLUSION: SBP1 has a complete open reading frame, and biological functions by binding with SP I. The sequence similarity results indicate that the human SBP1 is a new member of transcription factor C/EBP β .

Hong Y, Cheng J. Cloning of the gene of preS1 promoter of hepatitis B virus specific DNA-binding protein 1. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2004; 12(1):47-50

摘要

目的: 发现了与乙型肝炎病毒表面抗原基因启动子 I (HBV-

SP I) 结合的未知功能蛋白, 并克隆了他的全长基因。

方法: 以 SP I 核心序列为“诱饵”, 应用酵母单杂交技术对人肝细胞 cDNA 文库进行筛选, 得到了一个未知基因, 命名为乙型肝炎病毒表面抗原基因启动子 I 结合蛋白 1 (SBP1)。结合生物信息学技术, 应用分子生物学技术, 克隆了 SBP 1 的基因编码序列。

结果: 经酶切和测序鉴定, 结果正确, 成功克隆了 SBP 1 的基因编码序列。

结论: SBP 1 具有完整的开放读码框, 可能通过与 SP I 的结合发挥生物学作用。

洪源, 成军. 乙型肝炎病毒表面抗原基因启动子 I 结合蛋白 1 的基因克隆化研究. 世界华人消化杂志 2004;12(1):47-50

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/47.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)一种严重危害人类健康的致病因子^[1]. 他感染人体除引起急慢性乙型肝炎和肝硬化外, 还与肝癌的发生有密切关系^[2-10]. HBV 属嗜肝 DNA 病毒, 其基因组为 3.2 kb 部分双链的环状 DNA. 目前在 HBV 基因组中已发现并鉴定的顺式元件有四个启动子、两个增强子和糖皮质激素应答元件. 其中表面抗原基因含有两个串联的启动子 -SP I 和 SP II. SP I (2 219-2 780 nt) 的主要作用是调节 2.4 kb mRNA 的转录, 编码表面抗原大蛋白. 研究证实, SP I 含有典型 TATA 盒序列^[11], 其上游 50 bp 处为肝细胞特异性核因子 1 (hepatocyte nuclear factor 1, HNF1) 结合位点^[12]. 该结合位点是 HBV 转录调节的重要组分, 也是 HBV 嗜肝性的重要原因之一; 另有证据^[13]表明这一位点可能还有其他肝特异因子与之结合, 从而调节 2.4 kb mRNA 的转录. 为了寻找与 SP I 结合的肝特异性转录作用因子, 进一步探讨 SP I 的转录调节机制. 我们应用酵母单杂交体系^[14], 以 3 重复的 SP I 核心序列为“诱饵”, 对人肝细胞 cDNA 文库成功进行了筛选, 得到了一个未知基因, 命名为 SBP1. 结合生物信息学方法, 应用分子生物学技术, 克隆了 SBP1 的基因编码序列。

1 材料和方法

1.1 材料 大肠杆菌 DH5 α , 肝母细胞瘤细胞系 HepG2

为本室保存. 人肝细胞 cDNA 文库购自 clontech 公司, Taq DNA 聚合酶购自鼎国生物公司, 限制性内切酶购自Takara公司. 质粒DNA提取试剂盒及逆转录扩增试剂盒(Promega 公司), 玻璃奶 DNA 回收试剂盒(博大公司). 引物合成、核苷酸序列测序由上海博亚公司完成.

1.2 方法

1.2.1 “饵”载体及酵母报告菌株的构建 根据 HBV ayw 全基因组序列以表面抗原前 S1 区翻译起始点上游 90-64 nt 设计靶序列 5' -AGTTAATCATTACTTCCAA ACTAGACA-3' 和 5' -TGTCTAGTTTGGAAGTAATG ATTAAT-3' 的串联三聚体, 其片段两端分别加入 EcoR I 和 Xba I 或 EcoR I 和 Sal I 限制内切酶识别序列. 将退火的靶序列分别与各自的载体相连接. 转化大肠杆菌感受态细胞, 挑取在 Amp 平皿上生长的菌落提取质粒, 构建成重组质粒 pHISi-sp1 和 pHISi-1-sp1 和 pLacZi-sp1, 经酶切及 DNA 测序鉴定. 将 pHISi-sp1 和 pHISi-1-sp1 以 Xho I 酶切, 参照氯化锂酵母转化方案转化酵母菌株 YM4271, 取多个克隆转涂于添加了 0-60 mmol/L 的 3-AT SD/-His 平板, 30 °C 培养 7 d. pLacZi-sp1 以 Nco I 酶切线性化后, 转化酵母菌株 YM4271, 培养于 SD/-Ura 缺陷平板, 30 °C 培养 7 d.

1.2.2 以酵母报告菌株筛选人肝 cDNA 文库 以碱裂解法提取人肝细胞文库质粒. 参照氯化锂酵母转化方案, 转化文库质粒入 YMSP1-HIS 菌株, 铺板于含 30 mmol/L 3-AT 的 SD/-Leu/-His(亮氨酸和组氨酸)缺陷平板上, 30 °C 培养 7 d 后, 挑选直径大于 2 mm 的阳性克隆. 将阳性克隆以玻璃珠法提取酵母质粒. 转化入大肠杆菌 JM109 感受态细胞, 以碱裂解法提取质粒后转化入 YMSP1-LacZ 菌株, 铺板于 SD/-Ura/-Leu(尿嘧啶和亮氨酸)缺陷平板上. 按 clontech 克隆提取滤膜反应方案验证阳性克隆是否有激活酵母报告株 β-半乳糖苷酶(β-gal)的活性.

1.2.3 阳性 cDNA 序列的测定及分析 提取阳性克隆质粒后, 以双脱氧终止法测定 DNA 序列, 并将所得到的序列与 GenBank 提供的数据库进行同源性比较,

拼接.

1.2.4 从人肝癌细胞 cDNA 中扩增 SBP1 肝母细胞瘤细胞系 HepG2 以完全 DMEM 培养基培养, 于 55 mm 培养皿中 100% 融合后, 提取总 RNA, 并进行逆转录扩增. 以该逆转录产物为模板, 设计引物 5' -ATG CCA ACA GGC CTG GTC AG-3' 和 5' -TCT CCC CTG CAT GGC AAG TC-3' (设计长度为 470 bp), 进行聚合酶链反应(PCR), 反应产物经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳, 并进行测定 DNA 序列测定.

1.2.5 人 SBP1 基因和蛋白质序列的生物信息学分析 利用在线软件, 对于克隆的人 SBP1 基因序列和蛋白质序列进行生物信息学分析^[15].

2 结果

2.1 酵母报告株的制备 线性化的 pHISi-sp1 和 pHISi-1-sp1 质粒转化入 YM4271 酵母后, 发现有些克隆在 45 mmol/L 3-AT 存在下仍能生长, 而有些在 30 mmol/L 3-AT 存在下不能生长, 说明不同的报告酵母 his3 渗漏表达水平并不一致. 选取在 30 mmol/L 3-AT 存在下不能生长的克隆为报告株, 命名为 YMSP1-HIS. 线性化后的 pLacZi-sp1 转化入 YM4271 酵母, 培养于 SD/-Ura 缺陷平板. 挑取能在其上生长的克隆作为报告株, 命名为 YMSP1-LacZ.

2.2 cDNA 文库的筛选 取人肝 cDNA 文库质粒 20 μg, 转化入酵母报告株 YMSP1-HIS, 铺于 20 块 150 mm 含 30 mmol/L 3-AT 的 SD/-Leu/-His 缺陷平板上. 30 °C 培养 7 d 后, 挑选其中直径大于 2 mm 阳性克隆(共 24 个), 提取酵母质粒后转化入 YMSP1-LacZ 酵母报告株, 涂于 SD/-Ura/-Leu 缺陷平板, 30 °C 培养 7 d, 进行克隆提取滤膜反应, 3 h 内菌落变蓝者即为双阳性克隆. 从 24 个单阳性克隆中得到 12 个双阳性克隆.

2.3 双阳性克隆的测序及计算机拼接 对双阳性克隆进行测序, 并根据 GenBank 数据库进行 Blastn 同源性搜索和比对, 选择其中 1 个未知基因进行了拼接, 发现其开放读码框长 279 bp, 编码 93 aa 的蛋白质(图 1).

```

ATG CCA ACA GGC CTG GTC AGG CCG CCT GGC ACC TTC CCT CCA TGG
M   P   T   G   L   V   R   P   P   G   T   F   P   P   W
GTG CTG TGG AAG AGC TTG GCA CCC GTC TTC CCC TGT GGG CCC AGC
V   L   W   K   S   L   A   P   V   F   P   C   G   P   S
TGC TAT TCG GCA CTG GCG GCG GGC CAG GGC CCC TCG GGG TGC TTT
C   Y   S   A   L   A   A   G   Q   G   P   S   G   C   F
AAG GAT GTC GAT GTC AGC ACC AAA CCC TTG TTC TCA ATT AGC GTG
K   D   V   D   V   S   T   K   P   L   F   S   I   S   V
TCA CAA ACC CTG GAT TTG ATG CAG CTG GGA AAC CAG CCC ACT AAC
S   Q   T   L   D   L   M   Q   L   G   N   Q   P   T   N
AGA GGC TGC CTC ATC TTC ATG CAG GCA CTG CCA GAT GCA GAA GAG
R   G   C   L   I   F   M   Q   A   L   P   D   A   E   E
GAT GTC TAG
D   V   *

```

图 1 乙型肝炎病毒 SPI 结合蛋白 1(SBP1)的编码序列.

2.4 获得 SBP1 全长编码序列 以 HepG2 细胞系 cDNA 文库为模板, PCR 反应后经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳, 可见长度为 470 bp 的电泳条带(图 2). PCR 产物送测序, 结果完全符合 SBP1 的拼接序列.

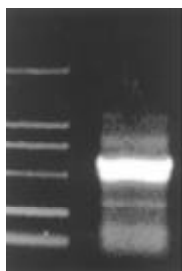


图 2 以 HepG2 cDNA 为模板, PCR 扩增 SBP1 启动子序列.

2.5 SBP1 基因及蛋白的生物信息学分析 将克隆的人

SBP1 基因序列, 在 www.ncbi.nlm.nih.gov/BLASTN 同源序列的比对中, 发现本文克隆的人 SBP1 基因序列与“clone RP11-6B20 on chromosome 6”基因序列完全同源, 因此, 可以将人 SBP1 的染色体基因序列定位于 6 号染色体上. 通过同源序列的比对, 没有发现内含子(intron)序列.

应用 www.ncbi.nlm.nih.gov/ 中 Swissprot 数据库同源蛋白质序列的比对, 发现本文克隆的人 SBP1 蛋白质序列与鸡的 CCAAT/ 增强子结合蛋白 β (CCAAT/enhancer binding protein β , C/EBP β)(图 3)的 145-183 aa 之间的序列高度同源. 这一结构同源性序列的比对提示本文克隆的 SBP1 蛋白可能是一种转录调节因子, 而且属于 C/EBP β . 因为人的核苷酸序列的数据库中目前还没有登录的相关序列, 因此可以认为本文克隆的人 SBP1 基因可能是一种新型的 C/EBP β , 是这一转录因子蛋白家族的一个新成员.

```
>gi|729096|sp|Q05826|CEBB_CHICK CCAAT/ENHANCER BINDING PROTEIN BETA
(C/EBP BETA) (TRANSCRIPTION FACTOR NF-M) (CCR PROTEIN) Length = 328 aa

Score = 28.1 bits (61), Expect = 3.0
Identities = 15/39 (38%), Positives = 18/39 (46%), Gaps = 4/39 (10%)

SBP1:          9  PGTFPPWVLWKSLAPVFPCGPSCYSAL----AAGQGPPSG  43
                PG  FPP ++      + PVF      SC          AG  GP G
CCR PROTEIN: 145  PGCFFPQIVETKVEPVFETLDSCKGPRKEEGGAGPGPGG 183
```

图 3 人 SBP1 蛋白质序列同源性比对结果.

3 讨论

真核生物的转录起始需要转录因子的参与. 结构上, 这些转录因子通常由一个 DNA 结合结构域和一个或多个与其他调控蛋白相互作用的激活结构域组成. 酵母 GAL4 蛋白即是一种典型的转录因子, 研究^[16]表明 GAL4 的 DNA 结合结构域可结合酵母半乳糖苷酶的上游激活位点(UAS); 而转录激活结构域可与 RNA 聚合酶或转录因子 TFIID 相互作用, 提高 RNA 聚合酶的活性. 在这一过程中, DNA 结合结构域和转录激活结构域可完全独立地发挥作用. 酵母单杂交系统正是基于这一理论, 将 GAL4 的 DNA 结合功能域置换为文库蛋白, 当他与我们导入的“饵”基因结合后, 就照常可以通过 DNA 激活结构域激活 RNA 聚合酶, 从而启动对下游报告基因的转录. 这样, 只要对酵母细胞内报告基因表达的筛选, 我们就可以对 DNA 与细胞内蛋白质的相互作用进行分析. 应用这一系统, 既可以寻找 DNA 结合位点, 对 DNA 结合位点进行分析; 也可以直接从基因文库中得到编码 DNA 结合蛋白质的核苷酸序列, 无需复杂的蛋白质分离纯化操作. 本实验采用 Clontech 公司首创的 MATCHMAKER 酵母单杂交系统^[17], 以组氨酸和 β -gal 为报告基因, 进行双阳性筛选. 即首先以 his3 报告酵母对人肝 cDNA 文库进行大规模初筛, 从中提取阳性克

隆质粒, 在大肠杆菌中扩增后, 再转入 LacZ 报告酵母, 验证 β -gal 的活性, 从而使假阳性的可能性尽可能降低.

SP I 是 HBV 的一个重要转录元件, 调节 HBV 表面抗原大蛋白的表达. 对携带 HBV DNA 的转基因小鼠及感染 HBV 的黑猩猩模型的研究^[18-27]表明, 表面抗原主蛋白可在不同的组织中表达, 而表面抗原大蛋白只在肝内特异发现, 这一结果强烈提示: 表面抗原大蛋白的表达具有肝特异性, SP I 在肝特异性表达中起着关键作用^[28-38]. Chang et al^[39]通过应用瞬时转染分析、体外 RNase 保护分析等方法, 对这一现象的原因进行了研究, 结果显示, HNF1 与 SP I 的结合可能是主要原因. 将该因子去除后, SP I 的转录活性下降了 20 倍. 同时可能还有其他肝特异因子参与调节^[39-40]. 为了寻找新的肝特异结合蛋白, 了解 SP I 嗜肝性的原因. 我们以 3 重复的 SP I 核心序列为“诱饵”, 整合入酵母基因组, 构建了酵母报告株; 经加入人肝 cDNA 文库进行筛选, 得到了 12 个双阳性克隆, 其中有 3 个为未知基因. 经用计算机分析、拼接后, 得到了其中一个未知基因的编码序列, 命名为 SBP1. 根据这一序列设计引物, 从人肝癌细胞 cDNA 文库中 PCR 扩增得到了 SBP1 基因序列. 反应产物经测序完全符合计算机分析结果, 这表明

我们已顺利得到了SBP1编码序列. 这一结果为我们下一步继续研究SP I的转录调控机制及验证SP I和SBP1的体内、外结合作用打下了良好的基础. 但目前新基因的生物学作用和HBV致病机制中的作用和地位尚不明确, 需要进一步对其进行生物学功能的研究, 以阐明新基因的生物学意义.

4 参考文献

- 1 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, 1997:86-198
- 2 韩萍, 刘妍, 成军, 王刚, 陆荫英, 李克, 李莉. 截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白上调 *c-myc* 基因表达的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:141-144
- 3 洪源, 成军. 肝炎病毒DNA疫苗的研究进展. 世界华人消化杂志 2002;10:221-223
- 4 李克, 王琳, 成军, 陆荫英, 洪源, 刘妍, 张玲霞. 乙型肝炎病毒蛋白结合蛋白的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:213-215
- 5 刘妍, 成军, 陆荫英, 李克. 乙型肝炎病毒蛋白反式激活基因的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:217-219
- 6 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蛋白的基因. 世界华人消化杂志 2002;10:161-164
- 7 陆荫英, 李克, 刘妍, 王琳, 成军, 张玲霞. 乙型及丙型肝炎病毒受体的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:211-213
- 8 成军, 董菁, 刘妍, 李莉, 斯崇文, 王勤环, 张玲霞, 陈菊梅. 乙型肝炎病毒准种研究的临床意义. 世界华人消化杂志 2002;10:209-211
- 9 成军. 慢性病毒性肝炎发病机制的分子生物学研究. 世界华人消化杂志 2002;10:125-128
- 10 洪源, 成军, 董菁, 李克, 王琳, 王刚, 刘妍. 乙型肝炎病毒HBsAg重组疫苗与表面抗原DNA疫苗诱导H-2^b小鼠免疫应答的实验研究. 世界华人消化杂志 2002;10:137-140
- 11 Siddiqui A, Jameel S, Mapoles J. Transcriptional control elements of hepatitis B surface antigen gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:566-570
- 12 Raney A, Easton AJ, McLanchlan A. Characterization of the minimal elements of the hepatitis B virus large surface antigen promoter. *J Gen Virol* 1994;75(Pt 10):2671-2679
- 13 Li JJ, Herskowitz I. Isolation of ORC6, a component of the yeast origin recognition complex by a one-hybrid system. *Science* 1993;262:1870-1873
- 14 Liu JD, Wilson TE, Milbrandt J, Johnston M. Identifying DNA-binding sites and analyzing DNA-binding domains using a yeast selection system. *A Comp Meth Enzymol* 1993;5:125-137
- 15 成军, 刘妍, 陆荫英, 李克, 王琳. 生物信息学技术与新基因的研究. 世界华人消化杂志 2003;11:474-477
- 16 Luo Y, Vijaychander S, Stile J, Zhu L. Cloning and analysis of DNA-binding proteins by yeast one-hybrid and one-two-hybrid systems. *Biotechniques* 1996;20:564-568
- 17 Araki K, Miyazaki O, Hino N, Tomita N, Chisaka O, Matsubara K, Yamamura K. Expression and replication of hepatitis B virus genome in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:207-211
- 18 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
- 19 陆荫英, 王琳, 刘妍, 于敏, 李克, 王业东, 张玲霞, 成军. 乙型肝炎病毒核心抗原单链抗体细胞内免疫抗乙型肝炎病毒基因治疗研究. 世界华人消化杂志 2002;10:765-769
- 20 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
- 21 陆荫英, 成军, 李克, 刘妍, 王琳, 张玲霞. 丙型肝炎病毒进入肝细胞机制的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:1028-1029
- 22 洪源, 成军, 李莉. 丙型肝炎病毒转基因小鼠模型的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:1032-1034
- 23 成军. 新基因结构与功能研究的策略. 世界华人消化杂志 2003;11:373-377
- 24 成军, 李克, 陆荫英, 王琳, 刘妍. 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. 世界华人消化杂志 2003;11:378-384
- 25 王琳, 李克, 成军, 陆荫英, 张健, 陈天艳, 洪源, 刘妍, 王刚, 钟彦伟. 酵母双杂交技术筛选Hcbp6结合的肝细胞蛋白编码基因. 世界华人消化杂志 2003;11:385-388
- 26 刘妍, 成军, 李克, 杨倩, 陆荫英, 王琳, 王建军. 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. 世界华人消化杂志 2003;11:394-398
- 27 陈天燕, 成军, 张树林. 酵母双杂交系统的原理及应用. 世界华人消化杂志 2003;11:451-455
- 28 马守东, 洪源, 成军. 酵母单杂交技术的原理及应用. 世界华人消化杂志 2003;11:450-451
- 29 成军, 刘妍, 陆荫英, 李克, 王琳. 乙型肝炎病毒对细胞信号转导的影响. 世界华人消化杂志 2003;11:472-474
- 30 成军, 刘妍, 陆荫英, 李克, 王琳. 肿瘤抑制因子P21/waf1与肝炎病毒复制与表达的调节研究. 世界华人消化杂志 2003;11:469-471
- 31 陆荫英, 王琳, 成军, 李克, 刘妍, 张玲霞. 酵母双杂交技术筛选HBcAg肝细胞结合蛋白基因. 世界华人消化杂志 2003;11:426-429
- 32 陆荫英, 王琳, 李克, 刘妍, 成军, 张玲霞. HBeAg肝细胞结合蛋白基因的筛选与克隆. 世界华人消化杂志 2003;11:422-425
- 33 成军, 刘妍, 洪源, 王琳, 钟彦伟, 董菁, 王刚. 丙型肝炎病毒非结构蛋白5A反式激活基因10的克隆化研究. 世界华人消化杂志 2003;11:935-938
- 34 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩. 基因表达谱芯片技术筛选乙型肝炎病毒X蛋白反式调节基因. 世界华人消化杂志 2003;11:920-924
- 35 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩. 基因表达谱芯片技术筛选丙型肝炎病毒非结构蛋白3反式调节靶基因. 世界华人消化杂志 2003;11:930-934
- 36 成军, 刘妍, 洪源, 王琳, 钟彦伟, 董菁, 王刚. 乙型肝炎病毒X蛋白反式激活基因10的克隆化研究. 世界华人消化杂志 2003;11:925-929
- 37 洪源, 刘妍, 成军, 杨倩, 王建军. 应用表达谱芯片技术对截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式调节基因的研究. 世界华人消化杂志 2003;11:943-946
- 38 洪源, 刘妍, 成军, 杨倩, 王建军. 应用表达谱芯片技术对丙型肝炎病毒非结构蛋白5A反式调节基因的研究. 世界华人消化杂志 2003;11:939-942
- 39 Chang HK, Ting LP. The surface gene promoter of the human hepatitis B virus displays a preference for differentiated hepatocytes. *Virology* 1989;170:176-183
- 40 Cattaneo R, Will N, Schaller H. Hepatitis B virus transcription in the infected liver. *EMBO J* 1984;3:2191-2196