

乙型肝炎病毒X蛋白反式激活基因XTP12的克隆化

官嫚, 成军, 纪冬, 刘妍, 郭江, 王建军, 戴久增, 李筠

官嫚, 成军, 纪冬, 刘妍, 郭江, 王建军, 戴久增, 李筠, 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

官嫚, 女, 1972-11-20生, 辽宁省丹东市人, 满族, 2003年解放军军医进修学院硕士生, 主治医师, 主要从事肝脏疾病的基础研究及临床工作。

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, 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: 2004-05-28 接受日期: 2004-09-30

Cloning of human gene XTP12 transactivated by X protein of hepatitis B virus

Man Gong, Jun Cheng, Dong Ji, Yan Liu, Jiang Guo, Jian-Jun Wang, Jiu-Zeng Dai, Jun Li

Man Gong, Jun Cheng, Dong Ji, Yan Liu, Jiang Guo, Jian-Jun Wang, Jiu-Zeng Dai, Jun Li, Gene Therapy Research Center, Institute of Infectious Diseases, 302 Hospital of Chinese PLA, Beijing 100039, China

Supported by National Natural Science Foundation of China, No. C39970674, No. C03011402, No. C30070689, and Returned Scholarship of General Logistics Department of PLA, No. 98H038

Correspondence to: Jun Cheng, Gene Therapy Research Center, Institute of Infectious Diseases, 302 Hospital of Chinese PLA, 100 Xisihuan Zhong Road, Beijing 100039, China. cj@genetherapy.com.cn

Received: 2004-05-28 Accepted: 2004-09-30

Abstract

AIM: To screen and clone the target gene transactivated by hepatitis B virus (HBV) X protein and to pave the way for further elucidating the pathogenesis of HBV infection.

METHODS: The HBV X coding DNA fragment was amplified with polymerase chain reaction (PCR) technique using pCP10 plasmid containing the full length of HBV genome as the template. The expressive vector of pcDNA3.1-X was constructed by routine molecular biological methods. The HepG2 cells were transfected by pcDNA3.1(-) and pcDNA3.1-X respectively. The total mRNA was isolated and reversely transcribed. The cDNA was analyzed by DNA microarray and then target gene transactivated by hepatitis B virus (HBV) X protein was cloned by molecular biological technique.

RESULTS: After searching for homologous DNA sequences from GenBank, we found that one of the obtained sequences was a new gene with unknown function. Its full length was confirmed by PCR method. The new gene, amplified from the mRNA of HepG2 cells, consisted of 731 nucleotides (nt) and encoded 230 amino acids, and it was

named as XTP12 and registered in GenBank with the accession number AY598792.

CONCLUSION: The target gene is successfully cloned and it will pave the way for further study of the molecular mechanism of the transactivating effects of HBV X protein and the new therapy for chronic hepatitis B.

Gong M, Cheng J, Ji D, Liu Y, Guo J, Wang JJ, Dai JZ, Li J. Cloning of human gene XTP12 transactivated by X protein of hepatitis B virus. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2004;12(11):2572-2575

摘要

目的: 应用基因表达谱芯片技术及生物信息技术筛选并克隆乙型肝炎病毒(HBV)X蛋白反式激活新型靶基因, 进一步阐明HBV感染相关性疾病的发病机制。

方法: 以HBV X蛋白表达质粒pcDNA3.1(-)-X转染HepG2细胞, 以空载体pcDNA3.1(-)为平行对照, 提取总RNA进行逆转录, 对产物行基因表达谱芯片分析。应用分子生物学技术, 结合生物信息技术, 克隆HBV X反式激活作用的新的靶基因。

结果: 对于所获基因片段序列分析表明, 其中之一为新型基因片段。从HepG2细胞提取总RNA, 以逆转录多聚酶链反应(RT-PCR)技术扩增获得该新基因的全长序列, 并测序证实, 因其可以被X蛋白反式激活, 故命名为X蛋白反式激活蛋白12(XTP12), 已在GenBank中注册, 注册号: AY598792。PS2TP1基因的编码序列全长为731个核苷酸(nt), 编码产物由230个氨基酸残基(aa)组成。

结论: HBV X反式激活新靶基因被成功克隆, 为进一步研究HBV X蛋白的分子生物学机制和探索新型治疗技术奠定基础。

官嫚, 成军, 纪冬, 刘妍, 郭江, 王建军, 戴久增, 李筠. 乙型肝炎病毒X蛋白反式激活基因XTP12的克隆化. 世界华人消化杂志 2004;12(11):2572-2575
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2572.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)基因组中最小的开放读码框架(ORF)编码的X蛋白(HBxAg)是一种具有反式激活(transactivation)作用的病毒蛋白, 在HBV感染肝细胞的恶性转化中具有十分重要的作用。HBxAg蛋白不仅对其自身的一些启动子的转录活性具有显著的影响,

而且对其他类型病毒的启动子以及肝细胞的基因启动子也可以产生影响, 改变肝细胞的基因表达谱^[1-6]。为了寻找HBxAg反式激活的新的靶基因, 我们应用基因芯片(DNA microarrays)技术, 对于HBxAg蛋白反式激活作用的靶基因进行筛选, 并应用生物信息学和逆转录PCR(RT-PCR)技术克隆X蛋白反式激活基因12(XTP12), 使进一步研究XTP12蛋白的生物学功能成为可能。

1 材料和方法

1.1 材料 HepG2细胞及感受态大肠杆菌DH5 α (本室保存), pcDNA3.1(-)真核表达载体(Invitrogen); FuGENE 6 Transfection Reagent (Roche), mRNA Purification 试剂盒 (Amersham Pharmacia Biotech), T7、SP6通用引物及pGEM-T载体(Promega), 细胞培养试剂(HyClone), DNA序列测定由上海联合基因公司完成。

1.2 方法 以含有2拷贝头尾连接的HBV DNA的质粒pCP10作为模板, 根据ayw亚型的HBV DNA序列设计、合成引物, 进行PCR扩增。扩增的HBxAg的编码基因首先克隆到TA载体中进行序列测定, 然后亚克隆到真核表达载体pcDNA3.1(-)中, 构建真核表达载体pcDNA3.1(-)-HBxAg^[7]。肝母细胞瘤细胞系HepG2以DMEM完全培养基培养, 前1 d传代, 75%融合度的细胞, 应用FuGene 6脂质体转染试剂进行转染, 真核表达载体质粒DNA用量为2 μ g, 转染后48 h收获细胞^[8-10]。

1.2.1 基因芯片技术分析 应用Trizol试剂盒提取转染细胞的总RNA, 并进行逆转录^[11], 进行基因表达谱分析。包含1152个cDNA由上海联合基因有限公司提供, 包括原癌基因和抑癌基因、免疫调节相关基因、细胞凋亡和应激反应蛋白相关基因、信号转导相关基因等。靶基因以0.5 g/L溶解于3 \times SSC溶液中, 用Cartesian公司的Cartesian 7500点样仪及TeleChem公司的硅烷化玻片进行点样, 杂交及洗涤, 之后应用General Scanning公司的ScanArray 3000扫描芯片。用预先选定的内参照基因(24条管家基因, 每个基因点2个点, 共48个点)对Cy3和Cy5的原始提取信号进行均衡和修正。用ImaGene 3.0软件分析Cy3、Cy5两种荧光信号的强度, 计算Cy5/Cy3比值, 阳性结果判断: Cy5/Cy3>2.0, 红色荧光, 显示表达增强; Cy5/Cy3<0.5, 为绿色荧光, 显示表达减弱。对于所获基因片段序列分析表明, 其中之一为新型基因片段。

1.2.2 新基因的PCR扩增与序列分析 根据电子拼接的新基因序列(731 bp), 利用生物软件Vector NTI设计新基因的序列特异性的含有特异性核酸内切酶EcoR I/BamH I(划线部分)引物(上游引物序列为: 5' GAA TTC ACC ACC TGT ATT TCA AAA TG-3', 下游引物序列为: 5' -GGA TCC CTG GTC AGT ACT CTA CTC TG-3'), 利用HepG2细胞来源的mRNA经过RT-PCR扩增所合

成的cDNA为模板, 放入9600PCR仪内进行扩增, 条件: 94 $^{\circ}$ C预变性2 min; 94 $^{\circ}$ C变性1 min, 60 $^{\circ}$ C退火1 min, 72 $^{\circ}$ C延伸1 min, 35个循环, 再于72 $^{\circ}$ C延伸10 min。扩增产物经10 g/L琼脂糖凝胶电泳获得预期片段, 玻璃奶回收, 并与pGEM-T载体连接, 转化DH5 α 感受态细菌, 铺于含有氨苄青霉素的LB/X-gal/IPTG培养板上, 37 $^{\circ}$ C培养18 h。挑取白色菌落, 增菌, 使用碱裂解法提取质粒后进行双酶切(EcoR I/BamH I)鉴定, 证明目的基因约731 bp后测序, 进一步鉴定正确后获得阳性克隆。

2 结果

HBV X蛋白真核表达载体的构建及细胞转染经过限制性内切酶消化作图分析, 以及插入基因片段的核苷酸序列分析, 证实构建的真核表达载体正确。

2.1 基因芯片技术分析 经过基因芯片技术分析, 证实转染真核表达载体pcDNA3-HBxAg的HepG2细胞与转染空白载体pcDNA3.1(-)的HepG2细胞进行比较, 发现HBxAg蛋白上调的靶基因有16种, 下调的靶基因有58种。其中一个与已知基因没有同源性, 根据生物信息学进行电子拼接, 并考虑真核细胞编码基因Kozak原则及编码区多聚腺苷酸加尾信号, 确定新的基因编码序列。

2.2 新基因的序列分析和克隆化 在16种HBxAg上调的靶基因中, 其中包括未知功能基因, 利用美国国立卫生院(NIH)国立医学图书馆(NLM)国立生物信息中心(NCBI)建立的核苷酸序列数据库(GenBank)及其同源基因序列的搜索(BLASTN), 获得HBxAg蛋白反式激活作用的新型靶基因, 利用生物软件Vector NTI设计引物, 利用HepG2细胞细胞来源的mRNA经过RT-PCR扩增所合成的cDNA为模板, 放入9600PCR仪内进行扩增, 获得该新基因的全长序列, 并测序证实, 此新基因命名为XTP12, 在GenBank中注册, 注册号为AY598792。XTP12基因的编码序列全长为731个核苷酸(nt)(图1), 编码产物由个氨基酸残基230个(aa)组成(图2)。

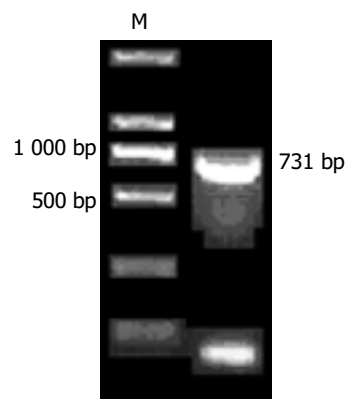


图1 XTP12基因PCR扩增产物电泳图。M: Marker。

	M	G	D	P	N	S	R	K	K	Q
1	ATG	GGG	GAC	CCA	AAC	TCC	CGG	AAG	AAA	CAA
	A	L	N	R	L	R	A	Q	L	R
31	GCT	CTG	AAC	AGA	CTA	CGT	GCT	CAG	CTT	AGA
	K	K	K	E	S	L	A	D	Q	F
61	AAG	AAA	AAA	GAA	TCT	CTA	GCT	GAC	CAG	TTT
	D	F	K	M	Y	I	A	F	V	F
91	GAC	TTC	AAG	ATG	TAT	ATT	GCC	TTT	GTA	TTC
	K	E	K	K	K	K	S	A	L	F
121	AAG	GAG	AAG	AAG	AAA	AAG	TCA	GCA	CTT	TTT
	E	V	S	E	V	I	P	V	M	T
151	GAA	GTG	TCT	GAG	GTT	ATA	CCA	GTC	ATG	ACA
	N	N	Y	E	E	N	I	L	K	G
181	AAT	AAT	TAT	GAA	GAA	AAT	ATC	CTG	AAA	GGT
	V	R	D	S	S	Y	S	L	E	S
211	GTG	CGA	GAT	TCC	AGC	TAT	TCC	TTG	GAA	AGT
	S	L	E	L	L	Q	K	D	V	V
241	TCC	CTA	GAG	CTT	TTA	CAG	AAG	GAT	GTG	GTA
	Q	L	H	A	P	R	Y	Q	S	M
271	CAG	CTC	CAT	GCT	CCT	CGA	TAT	CAG	TCT	ATG
	R	R	D	V	I	G	C	T	Q	E
301	AGA	AGG	GAT	GTA	ATT	GGC	TGT	ACT	CAG	GAG
	M	D	F	I	L	W	P	R	N	D
331	ATG	GAT	TTC	ATT	CTT	TGG	CCT	CGG	AAT	GAT
	I	E	K	I	V	C	L	L	F	S
361	ATT	GAA	AAA	ATC	GTC	TGT	CTC	CTG	TTT	TCT
	R	W	K	E	S	D	E	P	F	R
391	AGG	TGG	AAA	GAA	TCT	GAT	GAG	CCT	TTT	AGG
	P	V	Q	A	K	F	E	F	H	H
421	CCT	GTT	CAG	GCC	AAA	TTT	GAG	TTT	CAT	CAT
	G	D	Y	E	K	Q	F	L	H	V
451	GGT	GAC	TAT	GAA	AAA	CAG	TTT	CTG	CAT	GTA
	L	S	R	K	D	K	T	G	I	V
481	CTG	AGC	CGC	AAG	GAC	AAG	ACT	GGA	ATC	GTT
	V	N	N	P	N	Q	S	V	F	L
511	GTC	AAC	AAT	CCT	AAC	CAG	TCA	GTG	TTT	CTC
	F	I	D	R	Q	H	L	Q	T	P
541	TTC	ATT	GAC	AGA	CAG	CAC	TTG	CAG	ACT	CCA
	K	N	K	A	T	I	F	K	L	C
571	AAA	AAC	AAA	GCT	ACA	ATC	TTC	AAG	TTA	TGC
	S	I	C	L	Y	L	P	Q	E	Q
601	AGC	ATC	TGC	CTC	TAC	CTG	CCA	CAG	GAA	CAG
	L	T	H	W	A	V	G	T	I	E
631	CTC	ACC	CAC	TGG	GCA	GTT	GGC	ACC	ATA	GAG
	D	H	L	R	P	Y	M	P	E	*
661	GAT	CAC	CTC	CGT	CCT	TAT	ATG	CCA	GAG	TAG

图2 XTP12的核苷酸序列和编码产物的氨基酸残基序列。

3 讨论

基因芯片可以将极其大量的探针同时固定于支持物上,所以一次可以对大量的生物分子进行检测分析,从而解决了传统核酸印记杂交(southern blotting和northern blotting等)技术复杂、自动化程度低、检测目的分子数量少、低通量等不足。HBxAg蛋白在病毒复制、肝细胞癌变方面具有十分重要的作用,可反式激活病毒和细胞启动子进而调节病毒及细胞的转录,亦可调节细胞癌基因的表达和改变细胞的生长特性^[12-13]。HBxAg蛋白的奇特之处在于:结构简单,但却具有广泛的反式激

活作用。Nakatake *et al*^[14]对X基因的反式激活进行研究,结果为X基因终止密码子变异的HBV基因组转染HepG2后,病毒的复制水平下降;当与野生型X基因共转染时,病毒的复制水平将会得到恢复。Renner *et al*^[15]用含HBV增强子、C区启动子及CAT报告基因的质粒与X基因重组表达质粒共转染肝癌细胞PLC/PRF/5,同样也发现X基因可反式激活HBV增强子。HBxAg蛋白不仅可以上调HBV基因的复制能力,还可以影响细胞转录、生长以及细胞凋亡^[16]。目前认为HBxAg蛋白广泛的激活作用是由于其具有双重作用途径。HBxAg蛋白在细胞内定位于细胞质和核内^[17],对HBxAg反式激活途径目前研究认为存在两种方式,即:在胞质中通过信号传导途径,如:Ras-Raf-MAPK级连反应调节基因的表达^[18-20];在核内与TATA结合蛋白等相互作用而影响基因的表达。HBxAg蛋白还可以直接激活Src酪氨酸蛋白激酶的活性,Src激酶被激活后能刺激Ras-Raf-MAKP传导通路,促进c-Fos和c-Jun的合成,c-Fos和c-Jun以异二聚体的方式组成AP-1,AP-1直接结合序列特异的AP-1启动子上游反应元件,使转录水平上调。HBxAg蛋白细胞同时定位于胞质、胞核及其两种相对独立的反式激活途径,使其在HBV感染、HBV相关肝癌的发生和发展方面处于十分重要的地位,对其反式激活途径、方式进行深入的研究,有助于了解HCC发病机制,并对相应的治疗提供新的方法。

关于HBxAg的反式调节作用、对于肝细胞基因表达谱的影响等的研究还只能说刚刚开始,目前对于新克隆的HBxAg蛋白反式激活的靶基因的结构与功能、表达与调控,以及新基因的生物学作用和在乙型肝炎致病机制中的作用和地位不明,需要进一步研究,以阐明新基因的研究意义^[21-22]。但是我们相信,HBxAg反式调节的一种新型靶基因XTP12基因的克隆为研究HBxAg的生物学功能开辟了新的方向。对XTP12生物学和医学意义的研究,必将促进在HBV感染后对HBxAg作用机制研究的深入。

4 参考文献

- 1 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
- 2 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
- 3 洪源, 成军. 肝炎病毒DNA疫苗的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:221-222
- 4 李克, 王琳, 成军, 陆荫英, 张玲霞, 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
- 5 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
- 6 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
- 7 刘妍, 董菁, 成军, 夏小兵, 李克, 王琳, 施双双, 段惠娟, 杨继珍. 乙型肝炎病毒X基因在真核细胞中的表达及反式激活SV40病毒早期启动子的研究. 解放军医学杂志 2001;26:404-406
- 8 柯亨宁, 斯崇文, 成军, 于敏, 刘丹. HBsAg及其与小鼠白介素-18

- 融合蛋白表达质粒的构建和DNA免疫. 中华传染病杂志 2001; 19:77-80
- 9 成军, 李莉. 胸腺素 a1 在慢性病毒性肝炎治疗中的应用. 国外医学病毒学分册 2001;8:55-59
- 10 董菁, 成军, 王勤环, 施双双, 洪源, 皇甫竞坤, 王刚, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒逆转录酶区基因序列准种与变异研究. 解放军医学杂志 2001;26:823-825
- 11 皇甫竞坤, 董菁, 邓红, 成军, 施双双, 洪源, 任喜民, 李莉. 乙型肝炎病毒核心基因启动子序列突变及准种. 世界华人消化杂志 2001;9:1323-1325
- 12 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: 209-221
- 13 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
- 14 Nakatake H, Chisaka O, Yamamoto S, Matsubara K, Koshy R. Effect of X protein on transactivation of hepatitis B virus promoters and on viral replication. *Virology* 1993; 195:305-314
- 15 Renner M, Haniel A, Burgelt E, Hofschneider PH, Koch W. Transactivating function and expression of the x gene of hepatitis B virus. *J Hepatol* 1995;23:53-65
- 16 陆荫英, 李克, 成军, 王琳, 刘妍, 段惠娟, 张玲霞. 乙型肝炎病毒 X 基因酵母表达载体构建及表达. 世界华人消化杂志 2002;10: 15-18
- 17 Henkler F, Hoare J, Waseem N, Goldin RD, McGarvey MJ, Koshy R, King IA. Intracellular localization of the hepatitis B virus HBx protein. *J Gen Virol* 2001;82(Pt 4):871-882
- 18 Tarn C, Lee S, Hu Y, Ashendel C, Andrisani OM. Hepatitis B virus X protein differentially activates RAS-RAF-MAPK and JNK pathways in X-transforming versus non-transforming AML12 hepatocytes. *J Biol Chem* 2001;276: 34671-34680
- 19 Nijhara R, Jana SS, Goswami SK, Rana A, Majumdar SS, Kumar V, Sarkar DP. Sustained activation of mitogen-activated protein kinases and activator protein 1 by the hepatitis B virus X protein in mouse hepatocytes in vivo. *J Virol* 2001; 75:10348-10358
- 20 Nijhara R, Jana SS, Goswami SK, Kumar V, Sarkar DP. An internal segment (residues 58-119) of the hepatitis B virus X protein is sufficient to activate MAP kinase pathways in mouse liver. *FEBS Lett* 2001;504:59-64
- 21 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
- 22 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

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

世界华人消化杂志入编《中文核心期刊要目总览》 2004 年版内科学类的核心期刊

本刊讯 《中文核心期刊要目总览》2004 年版编委会, 依据文献计量学的原理和方法, 经过研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 并通过学科专家评审, 世界华人消化杂志被确定为内科学类的核心期刊, 编入《中文核心期刊要目总览》2004 年版(第四版)。本版核心期刊研究, 被列为“2001 年国家社会科学基金项目”。该书定于 2004 年 7 月由北京大学出版社出版。

该书已于 1992, 1996, 2000 年出版过三版, 在社会引起了较大反响、图书情报界、学术界、出版界和科研管理部门对该项研究成果都给予了较高评价, 普遍认为他适应社会需要, 为国内外图书情报部门对中文学术期刊的评估和选购提供了参考依据, 促进了中文期刊编辑和出版质量的提高, 已成为具有一定权威性的参考工具书。为了及时反映中文期刊发展变化的新情况, 《中文核心期刊要目总览》2004 年版编委会, 开展了新一版核心期刊的研究工作, 课题组认真总结了前三版的研究经验, 对核心期刊评价的基础理论、评价方法(定量评价指标体系、核心期刊的学科划分、核心期刊数量)、评价软件、核心期刊的作用与影响等问题进行了深入研究, 在此基础上, 进一步改进评价方法, 使之更加科学合理, 力求使评价结果能更准确地揭示中文期刊的实际情况。本版核心期刊定量评价, 采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、获国家奖或被国内外重要检索工具收录等 7 个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库达 51 种, 统计文献量达到 943 万余篇次(1999-2001 年), 涉及期刊 1 万 2 千种。本版还加大了专家评审力度, 1873 位学科专家参加了核心期刊评审工作。经过定量评价和定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出 1800 种核心期刊, 分属七大编 75 个学科类目。该书由各学科核心期刊表、核心期刊简介、专业期刊一览表等几部分组成, 不仅可以查询学科核心期刊, 还可以检索正在出版的学科专业期刊, 是图书情报、新闻出版、科研成果管理等部门和期刊读者的不可或缺的参考工具书。

该书由北京大学图书馆和北京高校图书馆期刊工作研究会合编, 北京大学图书馆戴龙基馆长和蔡蓉华研究馆员任主编, 北京高校图书馆期刊工作研究会成员馆、中国科学院文献中心、中国社会科学院文献中心、中国人民大学书报资料中心等相关部门的百余名专家和期刊工作参加了研究。(世界胃肠病学杂志 2004-05-05)