

- 14 Wakisaka Y, Furuta A, Masuda K, Morikawa W, Kuwano M, Iwaki T. Cellular distribution of NDRG1 protein in the rat kidney and brain during normal postnatal development. *J Histochem Cytochem* 2003;51:1515-1525
- 15 van Belzen N, Dinjens WN, Diesveld MP, Groen NA, van der Made AC, Nozawa Y, Vlietstra R, Trapman J, Bosman FT. A novel gene which is up-regulated during colon epithelial cell differentiation and down-regulated in colorectal neoplasms. *Lab Invest* 1997;77:85-92
- 16 Xu B, Lin L, Rote NS. Identification of a stress-induced protein during human trophoblast differentiation by differential display analysis. *Biol Reprod* 1999;61:681-686
- 17 Piquemal D, Joulia D, Balaguer P, Basset A, Marti J, Commes T. Differential expression of the RTP/Drg1/Ndr1 gene product in proliferating and growth arrested cells. *Biochim Biophys Acta* 1999;1450:364-373
- 18 Agarwala KL, Kokame K, Kato H, Miyata T. Phosphorylation of RTP, an ER stress-responsive cytoplasmic protein. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;272:641-647
- 19 Carter DA. Expression of a novel rat protein tyrosine phosphatase gene. *Biochim Biophys Acta* 1998;1442:405-408
- 20 Maiyar AC, Leong ML, Firestone GL. Importin- α mediates the regulated nuclear targeting of serum- and glucocorticoid-inducible protein kinase (Sgk) by recognition of a nuclear localization signal in the kinase central domain. *Mol Biol Cell* 2003;14:1221-1239
- 21 Firestone GL, Giampaolo JR, O'Keefe BA. Stimulus-dependent regulation of serum and glucocorticoid inducible protein kinase (SGK) transcription, subcellular localization and enzymatic activity. *Cell Physiol Biochem* 2003;13:1-12
- 22 Abbott BL. ABCG2 (BCRP) expression in normal and malignant hematopoietic cells. *Hematol Oncol* 2003;21:115-130
- 23 Zhao R, Goldman ID. Resistance to antifolates. *Oncogene* 2003;22:7431-7457
- 24 Pye S, Declercq W, Ibrahim A, Michiels C, Van Rietschoten JG, Dewulf N, de Boer M, Vandenabeele P, Huylebroeck D, Remacle JE. TTRAP, a novel protein that associates with CD40, tumor necrosis factor (TNF) receptor-75 and TNF receptor-associated factors (TRAFs), and that inhibits nuclear factor- κ B activation. *J Biol Chem* 2000;275:18586-18593
- 25 French J, Stirling R, Walsh M, Kennedy HD. The expression of Ras-GTPase activating protein SH3 domain-binding proteins, G3BPs, in human breast cancers. *Histochem J* 2002;34:223-231
- 26 Barnes CJ, Li F, Mandal M, Yang Z, Sahin AA, Kumar R. Heregulin induces expression, ATPase activity, and nuclear localization of G3BP, a Ras signaling component, in human breast tumors. *Cancer Res* 2002;62:1251-1255
- 27 Liu Y, Zheng J, Fang W, You J, Wang J, Cui X, Wu B. Identification of metastasis associated gene G3BP by differential display in human cancer cell sublines with different metastatic potentials G3BP as highly expressed in non-metastatic. *Chin Med J (Engl)* 2001;114:35-38
- 28 Kennedy D, French J, Guitard E, Ru K, Tocque B, Mattick J. Characterization of G3BPs: tissue specific expression, chromosomal localisation and rasGAP(120) binding studies. *J Cell Biochem* 2001;84:173-187
- 29 Peng ZM, Yang ZL, Liu YW. Expression of MMP1 and TIMP1 proteins in lung cancer and its biological significance. *Hunan Yike Daxue Xuebao* 2002;27:159-161
- 30 Wang A, Yang X, Wang W, Zuo F, Wang Q, He F. Effect of recombinant human augmentor of liver regeneration on gene expression of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in rat with experimental liver fibrosis. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2002;82:610-612

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

• 研究快报 •

基因表达谱芯片技术筛选 HCTP4 反式调节基因

刘敏, 成军, 张树林, 王琳, 邵清, 张健, 王燕颖

刘敏, 成军, 王琳, 邵清, 张健, 王燕颖, 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

张树林, 西安交通大学第一医院传染科 陕西省西安市 710061

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, 北京市中国人民解放军302医院传染病研究所基因治疗研究中心, c.j@genetherapy.com.cn

电话: 010-66933392 传真: 010-63801283

收稿日期: 2004-07-30 接受日期: 2004-09-30

摘要

目的: 应用基因表达谱芯片研究丙型肝炎病毒核心(HCV core)蛋白的反式调节基因HCTP4作用的靶基因。

方法: 构建HCTP4基因的真核表达载体pcDNA3.1(-)-

HCTP4, 应用基因表达谱芯片技术对pcDNA3.1(-)-HCTP4转染的HepG2(人肝母细胞瘤细胞系)细胞和转染空载体的相同细胞差异表达的mRNA进行检测和分析。

结果: HepG2细胞经转染HCTP4后, 有104条差异基因表达, 其中54条基因表达增强, 50条基因表达降低。这些差异表达的基因与细胞的增生、分化及细胞的信号转导密切相关。

结论: HCTP4是一种病毒反式激活蛋白, 对于肝细胞基因表达谱有显著影响, 与细胞的增生、分化及细胞的信号转导密切相关, 在HCV的致病过程中有重要作用。

刘敏, 成军, 张树林, 王琳, 邵清, 张健, 王燕颖. 基因表达谱芯片技术筛选 HCTP4 反式调节基因. 世界华人消化杂志 2004;12(11):2752-2756
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2752.asp>

0 引言

丙型肝炎病毒(HCV)可引起慢性肝炎、肝硬化及肝细胞癌(HCC),目前有1.7亿人感染,中国普通人群抗-HCV的阳性率约为3.2%,干扰素联合利巴韦林是其治疗方案,但是疗效不佳,其核心问题之一是有关发病机制不清. HCV core蛋白长191 aa,是一种多功能蛋白质,除了作为核壳蛋白具有病毒颗粒组装功能外,还具有调节细胞凋亡、脂代谢、转录、免疫呈递等作用,特别是在细胞凋亡中的作用可能与丙肝慢性化及肝细胞癌(HCC)的发生密切. HCV core蛋白具有广泛的反式激活作用,这种反式激活的作用机制,一方面是HCV core蛋白本身可以与感染的靶细胞的基因组中相关启动子序列结合,影响基因表达. 另外一种机制就是HCV core蛋白与感染靶细胞核中转录因子蛋白进行结合,从而对于靶细胞基因的表达产生间接的影响.

肝炎病毒蛋白与宿主蛋白相互作用,可能是病毒感染导致肝细胞损伤和肝细胞癌发生、发展的重要原因.为了从不同的角度对HCV core的反式调节基因进行验证及研究,我们应用基因表达谱芯片技术(cDNA microarray)和分子克隆方法对HCV core反式调节的靶基因HCTP4成功地进行了筛选和克隆^[1].为更加广泛深入地研究HCV core的反式调节基因HCTP4,我们应用基因表达谱芯片技术对HCTP4反式调节的靶基因进行筛选鉴定研究,试图对HCTP4的生物学功能有所了解,探索丙肝慢性化及肝细胞癌发生的机制.

1 材料和方法

1.1 材料 HepG2细胞及感受态大肠杆菌JM109(本室保存),pcDNA3.1(-)真核表达载体(Invitrogen); Lipofectamine PLUS 转染试剂(Gibco), mRNA Purification 试剂盒(Amersham Pharmacia Biotech), PCR-Select cDNA Subtraction 试剂盒, 50 × PCR Enzyme Mix、Advantage PCR Cloning 试剂盒(Clontech), High Pure PCR Product Purification 试剂盒(Boehringer Mannheim), T7、SP6通用引物及pGEM-Teasy载体(Promega).

1.2 方法

1.2.1 真核表达载体及细胞转染 HCTP4蛋白真核表达质粒pcDNA3.1(-)-HCTP4为本室构建并保存.用Lipofectamine PLUS 转染试剂将2 μg pcDNA3.1(-)-HCTP4及pcDNA3.1(-)空载体分别转染35 mm平皿HepG2细胞,48 h后收获细胞.

1.2.2 细胞mRNA提取 使用mRNA Purification试剂盒,直接提取转染了HCTP4表达质粒及空载体的HepG2细胞mRNA,经琼脂糖凝胶电泳及分光光度计进行定性定量分析.

1.2.3 探针标记 常规方法逆转录标记cDNA探针并纯化. Cy3-dUTP标记对照组细胞mRNA(5 μg), Cy5-dUTP标记实验组细胞mRNA(5 μg). 乙醇沉淀后溶解在20 μL 5 × SSC+2 g/L SDS杂交液中.

1.2.4 芯片制备 芯片包含的1 152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.以通用引物进行PCR扩增,PCR产物长度为1 000–3 000 bp.靶基因以0.5 g/L溶解于3 × 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.玻片经水合(2 h)、室温干燥(30 min),紫外线(UV)交联,再分别用0.2 g/L SDS、水及0.2 g/L的硼氢化钠溶液处理10 min,晾干备用.

1.2.5 预杂交 将预杂交液放入95 °C水浴锅内变性2 min,将待预杂交的芯片放入95 °C水浴锅内变性30 s,芯片取出后即放入无水乙醇中30 s,晾干.将已变性的预杂交液加到芯片的点样区域内,盖上盖玻片,放入杂交箱内42 °C预杂交5–6 h.

1.2.6 杂交及洗涤 将探针置于95 °C水浴中变性2 min;芯片置于95 °C水浴中变性30 s,芯片取出浸无水乙醇30 s,探针取出后迅速置于冰上.将探针置于芯片上,用盖玻片覆盖,置于杂交舱中,用Parafilm密封,放入42 °C杂交箱内杂交过夜(16–18 h).依次以2 × SSC+2 g/L SDS、1 g/L × SSC+2 g/L SDS、1 g/L × SSC洗涤10 min,室温晾干.

1.2.7 扫描与分析 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.

2 结果

2.1 HCTP4蛋白的表达载体构建 HCTP4蛋白真核表达质粒pcDNA3.1(-)-HCTP4由本室构建.

2.2 总RNA及mRNA的定性、定量分析 总RNA的吸光度A₂₆₀/A₂₈₀>1.89,热稳定实验70 °C保温1 h与-20 °C 1 h电泳条带比较,显示28 S条带无明显降解,电泳结果证实已抽提高纯度的总RNA. mRNA主要集中于0.9–4.0 kb的连续条带.

2.3 HCTP4蛋白上调基因类型 在基因芯片的扫描分析中,如果荧光染料的Cy5/Cy3比值在2.000以上,就判断为HCTP4蛋白的上调基因.我们在研究中发现有54种基因的表达水平上调(表1).

表1 HCTP4蛋白部分上调基因类型

编号	Cy3/Cy5 比值	基因名称
1	2.000	苹果酸盐脱氢酶 1(MDH1)
2	2.011	磷酸二酯酶 2A(PDE2A)
3	2.014	转录变体 1(FAP48)
4	2.017	雌激素调节蛋白 LIV-1
5	2.017	DKFZp564L2416克隆

6	2.030	亲脂素亚家族 3 成员 A 2
7	2.033	4 跨膜位点亚家族 A1(MS4A1)
8	2.048	脑丙氨酸脱羧酶(GAD1)
9	2.055	核糖体蛋白 L34(RPL34)
10	2.058	锌指蛋白 217(ZNF217)
11	2.068	酯酶 D
12	2.079	博莱霉素水解酶(BLMH)
13	2.088	溶血磷脂酶(LYPLA1)
14	2.089	KIAA0035 基因
15	2.091	RPB5 介导蛋白(RMP)
16	2.096	cAMP 反应元素结合蛋白 CRE-BPa
17	2.118	Ran 结合蛋白 2
18	2.123	墨角藻糖基转移酶 8(FUT8)
19	2.126	转录抑制蛋白(UK114)
20	2.138	热休克蛋白 8(HSP8)
21	2.152	KIAA0205 基因产物(KIAA0205)
22	2.156	异质核糖核蛋白 K
23	2.174	γ -氨基丁酸 A 受体 γ 2(GABRG2)
24	2.174	三十碳六烯环氧化物酶(SQLE)
25	2.183	泛素连接酶 E2D3(UBE2D3)
26	2.211	T 细胞白血病毒易位变异基因(TCTA)
27	2.256	热休克蛋白(HSP105B)
28	2.281	凋亡蛋白 1 抑制因子(MIHC)
29	2.281	CGI107
30	2.285	酪蛋白激酶 1(CSNK1)
31	2.303	热休克蛋白(HSJ2)
32	2.325	细胞内氯化物通道 4(CLIC4)
33	2.344	KIAA0824 蛋白
34	2.370	细胞骨架相关的维生素 A 反应(JVVA)
35	2.378	KIAA 基因产物(KIAA0009)
36	2.395	T 细胞受体重排 β 链基因 V 区
37	2.396	核受体亚家族 3, C 组, 成员 1(NR3C1)
38	2.403	BCRA2 区的假想蛋白
39	2.411	假想蛋白 FLJ20432
40	2.414	cAMP 依赖性蛋白激酶 II(PRKA2B)
41	2.445	Ig 超家族蛋白(Z39IG)
42	2.460	B 细胞淋巴瘤 10(BCL10)
43	2.498	焦磷酸酶(无机的)(PP)
44	2.525	cAMP 分解依赖的蛋白激酶 β (PRKACB)
45	2.559	confilin 同工型 1
46	2.621	选择素 2(CUL2)
47	2.635	肠促胰酶肽型 A 受体基因
48	2.658	热休克蛋白 40
49	2.676	C5 固醇脱氢酶
50	2.690	假想蛋白 9535
51	2.694	转化生长因子- β
52	2.697	染色体分离因子 1 类(CSE1L)
53	2.730	假想蛋白 FLJ11806
54	2.802	肌小管素相关蛋白 6

2.4 HCTP4 蛋白下调基因 在基因芯片的扫描分析中, 如果荧光染料的 Cy5/Cy3 比值在 0.500 以下, 就判断为 HCTP4 蛋白的下调基因. 我们在研究中发现有 50 种基因的表达水平下调(表 2).

表 2 HCTP4 蛋白部分下调基因类型

编号	Cy3/Cy5 比值	基因名称
1	0.040	白细胞转录延长因子 2(EEF2)
2	0.188	支架黏附因子 B(SAFB)
3	0.214	肌动蛋白结合 LIM 蛋白 1(ABLIM)
4	0.234	KIAA0100 基因产物(KIAA0100)
5	0.259	MAP 激酶激活死亡域(MADD)
6	0.266	prosaposin(PSAP)
7	0.304	小染色体持续缺陷因子 3(MCM3)
8	0.313	DEAD/H 盒多肽 21(DDX21)
9	0.317	DNA, ATP 依赖性连接酶 III (LIG3)
10	0.338	碱化素(BSG)
11	0.343	多聚酶 II 多肽 E(POLR2E)
12	0.347	金属蛋白酶 1(MP1)
13	0.348	小 EDRK 富集因子 2(SERF2)
14	0.368	ras 同源基因家族成员 C(ARHC)
15	0.369	胰岛素受体(INSR)
16	0.373	硫氧化还原素还原酶(TXNRD1)
17	0.375	组织蛋白酶 E(CTSE)
18	0.390	丝分裂素激活蛋白激酶激酶 2(MAP3K2)
19	0.396	尤因瘤破坏点区 1(EWSR1)
20	0.397	RAD23A
21	0.404	N-myc 下游调节基因 2(NDRG2)
22	0.406	肿瘤坏死因子受体超家族成员 5(TNFRSF5)
23	0.414	蛋白磷酸酶 2 调节亚型 A
24	0.415	N-酰基-肽水解酶(APEH)
25	0.415	v-raf 鼠胸腺瘤 3 611 病毒癌基因类同子 1(ARAF1)
26	0.416	组织特有的移植抗原 P35B(TSTA3)
27	0.416	G 蛋白途径抑制子 1(GPS1)
28	0.420	1, 25-二羟基维生素 D-3(VDUP1)
29	0.420	肌肉丙酮酸激酶(PKM2)
30	0.426	类组织相容性 13
31	0.431	蛋白磷酸酶 1(PPP1)
32	0.444	CD47 抗原
33	0.450	v-akt 鼠胸腺瘤病毒基因类同子 1(AKT1)
34	0.453	妊娠特有 β 1 糖蛋白 6(PSG6)
35	0.454	干扰素调节因子 2(IRF2)
36	0.458	肌动蛋白
37	0.466	通过死亡域协助 TNFRSF1A(TrADD)
38	0.469	粒素(GRN)
39	0.471	TAL1 中断点(SIL)
40	0.471	果蝇属激酶(PLK)
41	0.475	转移生长因子 β 1(TGFB1)

42	0.478	精氨酸琥珀酸盐合成酶(ASS)
43	0.479	KIAA0943 蛋白
44	0.481	多核巨细胞克隆 15351
45	0.481	CGI-78 蛋白
46	0.490	丝氨酸蛋白激酶抑制子
47	0.493	谷胱甘肽过氧化物酶 3(GPX3)
48	0.495	转羟乙醛酶(TKT)
49	0.498	NY-REN-62 抗原
50	0.498	烯醇化酶 3

3 讨论

与宿主多种形式蛋白相互作用,可能是 HCV 感染导致肝细胞损伤和肝细胞癌发生、发展的重要原因. HCV core 蛋白转基因小鼠发生 HCC 病理学特征直接证明了 HCV core 蛋白的这种作用^[2-4]. 因此,研究 HCV core 蛋白结合蛋白对于 HCV 感染慢性化的机制,以及探讨 HCV 感染治疗新方法的研究,具有十分重要的意义. 我们应用基因表达谱芯片技术(cDNA microarray)和分子克隆方法对 HCV core 反式调节的靶基因 HCTP4 成功地进行筛选和克隆. HCTP4 作为获得新的编码基因序列,关于其生物学功能,甚至其医学意义的研究,有待进一步研究.

我们应用酵母双杂交系统-3 筛选出与 HCTP4 相互作用的蛋白基因 11 种,其中免疫球蛋白 λ 轻链、智能弹(mind bomb, MIB)、小核糖核蛋白 G、UMP-CMP 激酶与免疫调节、信号转导及能量供给等作用相关,说明 HCV core 的反式调节基因 HCTP4 具有相关作用,证明 HCTP4 与 core 蛋白在 HCV 感染致病机制作用密切相关^[5]. 应用 SSH 技术筛选到新基因 HCTP4 与诱导膜损伤的癌前受体、肿瘤排斥抗原(TRA)、肝细胞癌抗原、Fn、干扰素调节因子 2 结合蛋白、干扰素 γ 有相互作用,而这些基因与免疫及肿瘤发生有关,推测 HCTP4 在 Core 蛋白与这些基因之间起桥梁作用.

基因芯片技术是研究基因表达谱改变的有效分析技术^[6-8]. 实验中我们用基因芯片技术分析 HCTP4,结果表明,54 种基因的表达水平上调,50 种基因的表达水平下调. 在上调基因中,细胞内氯化物通道 4 介导纤维母细胞与肌成纤维细胞间的转化,与肝纤维化发生有关^[9]. 锌指蛋白 217 增高与肿瘤发生有关^[10]. 凋亡蛋白 1 抑制因子与细胞凋亡关系密切^[11]. 细胞骨架相关的维生素 A 反应调节细胞分化^[12]. cAMP 是一种重要的信号分子,对各种细胞功能有重要作用, cAMP 通过使不同靶蛋白磷酸化而转导信号,但 cAMP 发挥作用须通过激活 cAMP 依赖的蛋白激酶,所以 cAMP 依赖的蛋白激酶与信号转导及细胞功能关系密切^[13-14].

在下调基因中,转移生长因子 $\beta 1$ (TGFB1)与控制增生、分化有关,调节细胞生长的抑制作用,其信号传导途径发生障碍可引起肿瘤发生^[15]. 肌动蛋白结合 LIM 蛋白 1(ABLIM)在调节进化方面有重要作用,是肿

瘤抑制基因之一^[16]. HCTP4 使 TGFB1 和 ABLIM 表达降低,与 HCV 感染肿瘤发生密切相关. 鞘脂脂激活因子蛋白由单基因 prosaposin 编码,在蛋白分解过程中编码四种不同的鞘脂激活因子蛋白, prosaposin(PSAP)或鞘脂激活因子蛋白缺乏时导致各种鞘脂脂储存疾病^[17-18]. 胰岛素是一种多效性激素,通过与胰岛素受体结合参与多种代谢和有丝分裂^[19]. HCTP4 使 PSAP 和胰岛素受体表达减低,与 HCV 引起糖、脂肪代谢异常有关^[20-21]. DNA, ATP 依赖性连接酶 III 与 DNA 修复、重组有关,在 DNA 损伤因子引起的细胞凋亡过程中由钙激活蛋白酶降解^[22]. 硫氧化还原素还原酶(TXNRD1)是一种氧化还原蛋白,参与细胞增生、转化、凋亡. CD47 抗原广泛分布在各种组织,在膜运输和信号转导中有重要作用^[23-24]. DEAD/H 盒多肽 21(DDX21)与细胞生长、分裂有关,在核糖体 RNA 的编辑、运输、转录过程中有重要作用^[25]. MAP 激酶激活死亡域(MADD)与细胞凋亡有关^[26]. N-myc 下游调节基因 2 属于 α/β 水解酶超家族,是一种胞质蛋白,与肿瘤发生有关^[27]. 肿瘤坏死因子受体超家族成员 5(TNFRSF5)介导多种免疫和炎症反应,包括 T 细胞依赖性免疫球蛋白的转换、记忆性 B 细胞发育和生发中心的形成^[28-29].

总之,我们的研究结果表明,与 HCTP4 相互作用的基因包括细胞生长、细胞凋亡、信号转导、免疫调节、肿瘤发生等. 进一步证明了 HCTP4 确在 HCV 的发病过程中有重要作用. 其中 HCV 与多种基因如转移生长因子 $\beta 1$ 、肌动蛋白结合 LIM 蛋白 1 等有相互作用为首次发现,这为 HCV 的致病机制提供了新线索,有待进一步深入研究.

4 参考文献

- 1 刘敏, 成军, 王琳, 张树林. 丙型肝炎病毒核心蛋白反式激活基因 HCTP4 的克隆化研究. 胃肠病学和肝病杂志 2003;12:233-236
- 2 Liu M, Liu Y, Cheng J, Zhang SL, Wang L, Shao Q, Zhang J, Yang Q. Transactivating effect of hepatitis C virus core protein: A suppression subtractive hybridization study. *World J Gastroenterol* 2004;10:1746-1749
- 3 Van Pelt JF, Severi T, Crabbe T, Eetveldt AV, Verslype C, Roskams T, Fevery J. Expression of hepatitis C virus core protein impairs DNA repair in human hepatoma cells. *Cancer Lett* 2004;209:197-205
- 4 Watashi K, Shimotohno K. The roles of hepatitis C virus proteins in modulation of cellular functions: A novel action mechanism of the HCV core protein on gene regulation by nuclear hormone receptors. *Cancer Sci* 2003;94:937-943
- 5 刘敏, 成军, 张树林, 王琳, 邵清, 张健, 梁耀东. 应用白细胞 cDNA 文库的酵母双杂交技术筛选 HCTP4 结合蛋白基因. 世界华人消化杂志 2004;12:832-835
- 6 Dubois JW, Hill S, England LS, Edge T, Masson L, Trevors JT, Brousseau R. The development of a DNA microarray-based assay for the characterization of commercially formulated microbial products. *J Microbiol Methods* 2004;58:251-262
- 7 Sartippour MR, Heber D, Henning S, Elashoff D, Elashoff R, Rubio R, Zhang L, Norris A, Brooks MN. cDNA microarray analysis of endothelial cells in response to green tea reveals a suppressive phenotype. *Int J Oncol* 2004;25:193-202
- 8 Weeraratna AT, Nagel JE, de Mello-Coelho V, Taub DD. Gene expression profiling: from microarrays to medicine. *J Clin Immunol* 2004;24:213-224

- 9 Ronnov-Jessen L, Villadsen R, Edwards JC, Petersen OW. Differential expression of a chloride intracellular channel gene, CLIC4, in transforming growth factor-beta1-mediated conversion of fibroblasts to myofibroblasts. *Am J Pathol* 2002; 161:471-480
- 10 Nonet GH, Stampfer MR, Chin K, Gray JW, Collins CC, Yaswen P. The ZNF217 gene amplified in breast cancers promotes immortalization of human mammary epithelial cells. *Cancer Res* 2001;61:1250-1254
- 11 Horrevoets AJ, Fontijn RD, van Zonneveld AJ, de Vries CJ, ten Cate JW, Pannekoek H. Vascular endothelial genes that are responsive to tumor necrosis factor-alpha in vitro are expressed in atherosclerotic lesions, including inhibitor of apoptosis protein-1, stannin, and two novel genes. *Blood* 1999;93:3418-3431
- 12 Matsuda A, Suzuki Y, Honda G, Muramatsu S, Matsuzaki O, Nagano Y, Doi T, Shimotohno K, Harada T, Nishida E, Hayashi H, Sugano S. Large-scale identification and characterization of human genes that activate NF-kappaB and MAPK signaling pathways. *Oncogene* 2003;22:3307-3318
- 13 Cartier C, Hemonnot B, Gay B, Bardy M, Sanchiz C, Devaux C, Briant L. Active cAMP-dependent protein kinase incorporated within highly purified HIV-1 particles is required for viral infectivity and interacts with viral capsid protein. *J Biol Chem* 2003;278:35211-35219
- 14 Zidovetzki R, Wang JL, Chen P, Jeyaseelan R, Hofman F. Human immunodeficiency virus Tat protein induces interleukin 6 mRNA expression in human brain endothelial cells via protein kinase C- and cAMP-dependent protein kinase pathways. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1998;14:825-833
- 15 Fukuchi M, Nakajima M, Fukai Y, Miyazaki T, Masuda N, Sohda M, Manda R, Tsukada K, Kato H, Kuwano H. Increased expression of c-Ski as a co-repressor in transforming growth factor-beta signaling correlates with progression of esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2004;108: 818-824
- 16 Kim AC, Peters LL, Knoll JH, Van Huffel C, Ciciotte SL, Kleyn PW, Chishti AH. Limatin (LIMAB1), an actin-binding LIM protein, maps to mouse chromosome 19 and human chromosome 10q25, a region frequently deleted in human cancers. *Genomics* 1997;46:291-293
- 17 Ahn VE, Faull KF, Whitelegge JP, Fluharty AL, Prive GG. Crystal structure of saposin B reveals a dimeric shell for lipid binding. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:38-43
- 18 Sun Y, Qi X, Grabowski GA. Saposin C is required for normal resistance of acid beta-glucosidase to proteolytic degradation. *J Biol Chem* 2003;278:31918-31923
- 19 He HJ, Kole S, Kwon YK, Crow MT, Bernier M. Interaction of filamin A with the insulin receptor alters insulin-dependent activation of the mitogen-activated protein kinase pathway. *J Biol Chem* 2003;278:27096-27104
- 20 Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, Tsutsumi T, Tsukamoto K, Kimura S, Moriya K, Koike K. Hepatitis C virus infection and diabetes: direct involvement of the virus in the development of insulin resistance. *Gastroenterology* 2004;126:840-848
- 21 Bataller R, Paik YH, Lindquist JN, Lemasters JJ, Brenner DA. Hepatitis C virus core and nonstructural proteins induce fibrogenic effects in hepatic stellate cells. *Gastroenterology* 2004; 126:529-540
- 22 Bordone L, Campbell C. DNA ligase III is degraded by calpain during cell death induced by DNA-damaging agents. *J Biol Chem* 2002;277:26673-26680
- 23 Lechner S, Muller-Ladner U, Neumann E, Spottl T, Schlottmann K, Ruschoff J, Scholmerich J, Kullmann F. Thioredoxin reductase 1 expression in colon cancer: discrepancy between in vitro and in vivo findings. *Lab Invest* 2003;83:1321-1331
- 24 Anestis K, Arner ES. Rapid induction of cell death by selenium-compromised thioredoxin reductase 1 but not by the fully active enzyme containing selenocysteine. *J Biol Chem* 2003;278:15966-15972
- 25 Henning D, So RB, Jin R, Lau LF, Valdez BC. Silencing of RNA helicase II/Galpha inhibits mammalian ribosomal RNA production. *J Biol Chem* 2003;278:52307-52314
- 26 Lim KM, Chow VT. Induction of marked apoptosis in mammalian cancer cell lines by antisense DNA treatment to abolish expression of DENN (differentially expressed in normal and neoplastic cells). *Mol Carcinog* 2002;35:110-126
- 27 Deng Y, Yao L, Chau L, Ng SS, Peng Y, Liu X, Au WS, Wang J, Li F, Ji S, Han H, Nie X, Li Q, Kung HF, Leung SY, Lin MC. N-Myc downstream-regulated gene 2 (NDRG2) inhibits glioblastoma cell proliferation. *Int J Cancer* 2003;106:342-347
- 28 Contin C, Pitard V, Itai T, Nagata S, Moreau JF, Dechanet-Merville J. Membrane-anchored CD40 is processed by the tumor necrosis factor-alpha-converting enzyme. Implications for CD40 signaling. *J Biol Chem* 2003;278:32801-32809
- 29 Eeva J, Postila V, Matto M, Nuutinen U, Ropponen A, Eray M, Pelkonen J. Kinetics and signaling requirements of CD40-mediated protection from B cell receptor-induced apoptosis. *Eur J Immunol* 2003;33:2783-2791