

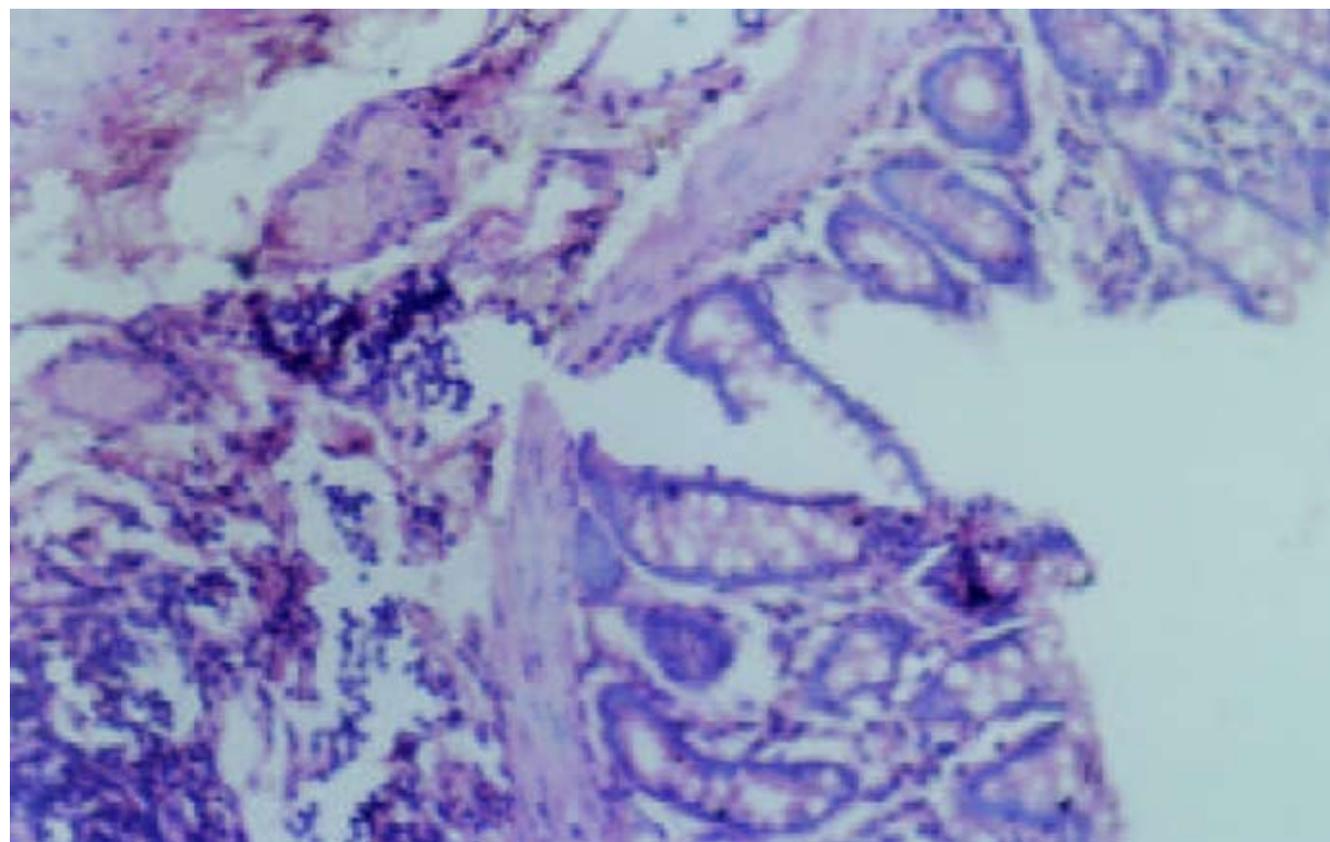
ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2004年2月15日 第12卷 第2期 (Volume 12 Number 2)



2/2004

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊,
2003年百种中国杰出学术期刊,
《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学
类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊。
世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》,
荷兰《医学文摘库/医学文摘》,
俄罗斯《文摘杂志》收录。

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●

2004年2月15日

第12卷

第2期

(总第119期)

述 评	253 肝炎病毒蛋白对肝细胞基因组转录调节及信号转导机制的影响 成军
胃 癌	258 胃癌线粒体DNA拷贝量的变化 韩琤波, 李凡, 杨雪飞, 毛晓韵, 吴东璇, 辛彦 262 胃癌前病变p21 ^{ras} , c-erbB-2, p53表达与中医证候的关系 胡玲, 劳绍贤 266 胃癌淋巴结转移预测的多因素分析 黄宝俊, 徐惠绵, 赵雨杰, 王天骄, 田大彤, 陈峻青
肝 癌	271 人鼠嵌合Fab抗体通用表达载体的构建和抗人肝癌相关抗原HAb18G嵌合Fab抗体的表达 邢金良, 杨向民, 张思河, 姚西英, 梁瑞安, 陈志南 276 肝癌细胞H ₂₂ 与树突状细胞杂交瘤苗的实验研究 张娟, 张锦堃, 卓少宏 280 肝细胞癌hOGG1 mRNA及其蛋白的表达 周秀敏, 林菊生, 章金艳, 张莉, 周鹤俊 283 小鼠AFP-CTLA4融合蛋白真核表达载体的构建及鉴定 田耕, 易继林
病毒性肝炎	286 丙型肝炎病毒核心蛋白结合视黄醇脱氢酶11蛋白 成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟 291 丙型肝炎病毒非结构蛋白5A结合蛋白37小鼠同源基因的克隆化及结构分析 成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟 298 新生儿HBe Ag在HBV宫内感染中的作用 邵中军, 门可, 徐剑秋, 徐德忠, 闫永平, 张景霞 302 应用抑制性消减杂交技术筛选TAHCCP2的反式调节基因 王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 纪冬, 党晓燕, 徐志强, 王春花 306 基因表达谱芯片筛选NS5ATP3转染细胞差异表达基因 刘妍, 杨倩, 成军, 王建军, 纪冬, 党晓燕, 王春花 311 基因表达谱芯片技术筛选NS5A-TP4蛋白反式调节基因 杨倩, 成军, 刘妍, 王建军, 洪源, 张树林 315 HCV包膜糖蛋白E2基因的克隆、蛋白表达及纯化 杜德伟, 贾战生, 秦鸿雁, 刘秋平, 周永兴, 韩 骅 319 应用表达谱芯片技术对NS5ATP7反式调节基因的研究 张健, 刘妍, 成军, 王琳, 邵清, 梁耀东, 李强, 刘敏 323 应用表达谱芯片技术筛选NS5ATP9反式调节基因的研究 李强, 梁耀东, 成军, 王琳, 王建军, 张健, 刘妍, 程明亮 327 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒反式调节靶基因的抑制性消减杂交和基因芯片分析结果的比较 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩, 王琳 332 多对型特异性引物巢式PCR检测湖南省乙肝病毒基因型 温志立, 谭德明
基础研究	336 人肝素酶基因正反义腺病毒表达载体的构建及鉴定 蔡永国, 房殿春, 杨仕明, 罗元辉, 杨孟华, 王东旭 339 正常与硬化肝组织基因表达差异的初步分析 刘连新, 陈志宏, 武林枫, 李宏伟, 刘芝华, 姜洪池, 王秀琴, 吴旻 344 癌基因对大鼠肝卵圆细胞分化和转化的影响 廖冰, 薛玲, 何萍, 赵国强, 车丽洪 347 中药抗纤软肝颗粒抑制PDGF诱导的肝星状细胞MEK-1和c-fos表达 杨玲, 朱清静, 笪邦红, 张赤志

	<p>351 实验性肝硬化大鼠小肠血红素氧合酶的表达 田德安,周晓黎</p> <p>355 胃黏膜保护剂预防幽门螺杆菌培养上清液所致小鼠胃黏膜损伤 崔梅花,胡伏莲,董欣红</p> <p>359 结肠充气CT对检测大肠肿瘤的敏感性和特异性 王毅,龚水根,张伟国,陈金华,张连阳,陈金萍</p> <p>363 胃溃疡大鼠胃泌素、生长抑素和GD细胞的变化 孙凤蓬,宋于刚,覃汉荣</p> <p>367 当归多糖对大鼠乙酸性结肠炎的保护作用 刘少平,董卫国,余保平,罗和生,于皆平,吴东方</p> <p>371 达纳康对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子的影响 周燕红,于皆平,何小飞,余细球</p>
临床研究	<p>376 恶性腹水基质金属蛋白酶活性分析 孙晓敏,董卫国,余保平,罗和生,于皆平</p> <p>379 慢性浅表性胃炎脾胃湿热证与水通道蛋白4蛋白表达的关系 周正,劳绍贤,黄志新,张向菊,黄烈平,匡忠生</p> <p>382 肠易激综合征患者肠黏膜肥大细胞的变化 王静,梁列新,张志雄,李国华,钱伟,侯晓华</p> <p>385 MRI评估肝硬化再生结节和退变结节 徐海波,孔祥泉,熊茵,冯敬生</p>
焦点论坛	<p>390 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟,张桂英,陈凤英,晏仲舒</p> <p>391 乙型肝炎病毒DNA聚合酶末端蛋白研究进展 陈国凤,成军,张玲霞,李莉</p> <p>393 乙型肝炎病毒DNA多聚酶P结构域研究进展 陈国凤,成军,王琳,张玲霞,李莉</p> <p>397 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对转录因子ATF-1的调节 王春花,成军,郎振为,王建军,刘妍,杨倩,党晓燕</p> <p>401 乙型和丙型肝炎病毒与胱冬肽酶3的关系 纪冬,成军,王建军,刘妍,杨倩,党晓燕,王春花</p> <p>403 乙型和丙型肝炎病毒对转录因子Nur77的调节 成军</p> <p>406 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对层粘连蛋白表达的调节 王建军,成军,刘妍,杨倩,纪冬,王春花</p> <p>408 转录因子C/EBPβ的生物学功能 成军</p> <p>412 活性氧簇与肝炎病毒的关系 梁耀东,成军,吴君,程明亮</p> <p>414 趋化因子与病毒性肝炎的关系 陆茵英,成军,张玲霞</p> <p>417 病毒性肝炎发病机制中环氧合酶的作用 刘敏,成军,张树林</p>
文献综述	<p>420 乙型肝炎病毒DNA整合的机制及后果 成军</p> <p>428 基质金属蛋白酶及其抑制物与实验性肝纤维化 郑伟达,王小众</p> <p>432 建议将亚临床型肝性脑病更名为轻微型肝性脑病 贾林</p> <p>434 右叶部分肝移植临床解剖进展 刘静,高毅,钟世镇</p> <p>439 肝素酶:抗肿瘤转移的新靶点 陈陵,杨仕明,房殿春,王东旭</p> <p>443 肠道上皮特异性基因CDX2 宋艳,李凌</p> <p>446 细胞凋亡与肝移植免疫耐受 刘静,汪爽,高毅,孙尔维</p> <p>450 自身免疫性肝炎诊断与治疗 欧强,谭德明</p> <p>454 VEGF在肝癌中作用 邓靖宇,何生</p>
研究快报	<p>459 胰腺癌组织中COX-2和Bcl-2蛋白的表达及其意义 刘希双,李玉军,田宇彬,张翠萍,孙显路,魏良洲,薛会光,刘思良</p> <p>461 3种富集胃癌患者外周血中胃癌细胞方法的比较 陈健,郭俊明,金之瑾,肖丙秀</p> <p>464 肠缺血再灌注对小肠屏障、吸收、通透和传输功能的影响 黎君友,孙丹,吕艺,晋桦,胡森,盛志勇</p> <p>467 MUC5AC蛋白在大肠肿瘤中的表达及意义 卜晓东,李俐,黄培林,樊克武,赵建华</p> <p>469 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟,张桂英,陈凤英,晏仲舒</p> <p>471 肛管直肠原发性恶性黑色素瘤临床病理特点 赵尔增,张建中,岳茂兴</p> <p>473 细胞周期蛋白D1 RT-PCR ELISA的建立及其初步应用 陈兵,张雪,府伟灵,常杭花,刘为纹,徐采朴,史景泉</p> <p>476 胃肠激素与不同类型反流所致食管炎的相关性 王雯,李兆中,许国铭,张志坚,林克荣</p> <p>477 尼美舒利对结肠癌细胞ICAM-1 mRNA表达的影响 刘伟,张超</p>

临床经验

- 480 腹腔镜次/全结肠切除术治疗结肠慢传输性便秘4例 张连阳, 刘宝华, 陈金萍, 文亚洲
- 481 内镜下氩离子凝固术治疗胃息肉 毛振彪, 黄介飞, 陆静娴, 俞智华, 倪润洲
- 483 肝硬化门脉系统食管侧支血流动力学与血浆内皮素的关系 肖际东, 李瑞珍, 周平, 朱文晖
- 485 大黄与促肝细胞生长素联合治疗重型肝炎 黄以群, 林珍辉, 纪树梅, 王喻, 王崇国
- 487 5 km长跑对新兵胆囊排空及胃肠激素的影响 李小丽, 郝悦, 杨凤江, 邹勤, 李智力, 李晓春
- 488 药物性肝病41例 苏淑慧, 王春平, 李迎新, 冯永毅
- 490 数字化成像结肠双对比造影检查345例 何发清, 官泳松, 王小林, 郭兵文, 孙龙
- 492 胃十二指肠隐匿性穿孔的诊断与治疗4例 詹世林, 吴良平, 蒲森水
- 494 胃癌及癌前病变中胃黏膜上皮细胞增生及凋亡相关基因蛋白表达 孟华, 刘丽娜, 吕申
- 497 胃十二指肠疾病与幽门螺杆菌感染的相关性分析 周惠萌, 范欣敏
- 499 原发性胆汁性肝硬化37例临床分析 董正芳, 程留芳
- 501 射频消融联合局部热化疗治疗特殊部位肝脏恶性肿瘤 田伏洲, 陈涛, 蔡忠红, 陈琪
- 503 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒

封面故事

- 371 达纳康对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子的影响
周燕红, 于皆平, 何小飞, 余细球 世界华人消化杂志 2004; 12(2): 371-375
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v12/i2/371.htm>

国际会议

- 13th United European Gastroenterology Week, UEGW
October 15-20, 2005
- American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting
October 28-November 2, 2005
- ISGCON 2005
November 11-15, 2005
isgcon2005@yahoo.co.in
isgcon2005.com
- Advanced Capsule Endoscopy Users Course
November 18-19, 2005
www.asge.org/education
- II Latvian Gastroenterology Congress
November 29, 2005
gec@stradini.lv
www.gastroenterologs.lv
- 2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases
December 1-3, 2005
c.chase@imedex.com
www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm
- 10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus
February 22-25, 2006
isde@sapmea.asn.au
www.isde.net

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
(半月刊)

创刊 1993-01-15
改刊 1998-01-25
出版 2004-02-15
原刊名 新消化病学杂志

名誉总编辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生
编辑部主任 张海宁 中文编辑 潘伯荣 张海宁
英文编辑 张海宁 排版校对 张敏 张勇 李琪

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

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: 010-85381901
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, 北京市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: 010-85381901
传真: 010-85381893

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊, 2003年百种中国杰出学术期刊, 《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊. 世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录.

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.

2005年版版权归世界胃肠病学杂志社所有

ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

邮发代号 82-262
国外代号 M 4481

国内定价 每期24.00元 全年576.00元

广告经营许可证
1401004000050

丙型肝炎病毒非结构蛋白5A结合蛋白37小鼠同源基因的克隆化及结构分析

成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟

成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟, 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重点实验室北京市100039

成军, 男, 1963-08-17生, 山东省淄博市人, 汉族. 1986年毕业于第一军医大学军医系, 获医学学士学位, 1989年毕业于军医进修学院, 获传染病学硕士学位, 1994年毕业于北京医科大学, 获传染病学博士学位, 1994-11-17/1997-12-01在美国得克萨斯大学健康科学中心临床免疫与传染病学完成博士后研究, 主任医师, 主要研究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, No. C39970674, 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、全军病毒性肝炎防治重点实验室. cj@genetherapy.com.cn

电话: 010-66933391 传真: 010-63801283

收稿日期: 2003-07-12 接受日期: 2003-08-16

Identification and sequence analysis of mouse homologous gene coding for hepatitis C virus non-structural protein 5A-binding protein 37

Jun Cheng, Ke Li, Lin Wang, Yin-Ying Lu, Yan Liu, Yan-Wei Zhong

Jun Cheng, Ke Li, Lin Wang, Yin-Ying Lu, Yan Liu, Yan-Wei Zhong, Gene Therapy Research Center, Institute of Infectious Diseases, 302 Hospital of PLA, Beijing 100039, China

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

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

Received: 2003-07-12 Accepted: 2003-08-16

Abstract

AIM: To clone murine homologous gene to human NS5ABP37 gene, and to elucidate its biological functions and the possible effects in the pathogenesis of hepatitis C virus (HCV) infection.

METHODS: Yeast-two hybrid system was employed to screen the human liver cDNA library by using non-structural protein 5A (NS5A) of hepatitis C virus (HCV) as the bait. According to the homologous role between the species, a murine NS5ABP37 homologous to human NS5ABP37 was deduced by bioinformatics methods. The primary sequence of murine NS5ABP37 was searched for conserved domains by online tools of GeneBank.

RESULTS: Human NS5ABP37 was screened and cloned from human liver cDNA library by yeast-two hybrid system 3. The murine NS5ABP37 was deduced by bioinformatics methods. The open reading frame (ORF) of murine NS5ABP37 con-

sisted of 1 488 nt encoding a protein of 495 amino acids. Calculated molecular weight was 54 583.67 dalton and predicted pI was 4.70. From the homologous protein search, murine NS5ABP37 was demonstrated homologous to leukocyte antigen related (LAR) protein precursor. The sequence of murine NS5ABP37 was deposited into GenBank, and the accession number was AY234860.

CONCLUSION: Successful identification and cloning of murine NS5ABP37, which is homologous to LAR protein precursor, paves a way for elucidating the biological function of murine NS5ABP37 and pathogenesis of hepatitis C virus infection.

Cheng J, Li K, Wang L, Lu YY, Liu Y, Zhong YW. Identification and sequence analysis of mouse homologous gene coding for hepatitis C virus non-structural protein 5A-binding protein 37. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(2):291-297

摘要

目的: 克隆丙型肝炎病毒(HCV)非结构蛋白5A(NS5A)结合蛋白37(NS5ABP37)的小鼠同源基因, 为阐明小鼠NS5ABP37基因的生物学功能奠定基础, 探索 HCV NS5A 蛋白与 NS5ABP37蛋白之间的结合在慢性丙型肝炎的发病机制中可能的作用。

方法: 利用酵母双杂交系统3, 以 HCV NS5A 蛋白作为诱饵, 筛选肝细胞cDNA文库, 首先获得HCV NS5A结合的人肝细胞蛋白的新的编码基因. 利用生物信息学(bioinformatics)技术确定 NS5ABP37的小鼠同源基因序列. 利用 GenBank 在线分析软件, 对小鼠NS5ABP37蛋白一级结构特点进行分析。

结果: 通过酵母双杂交技术获得了人NS5ABP37的编码基因. 利用生物信息学技术确定了小鼠NS5ABP37的基因序列. 利用分子生物学技术获得了小鼠的NS5ABP37的基因克隆, 小鼠NS5ABP37基因开放读码框架(ORF)为1 488 nt, 编码产物由495 aa组成. 计算分子量为54 583.67道尔顿, 预测等电点(pI)为4.70. 小鼠NS5ABP37与白细胞抗原相关(leukocyte antigen related, LAR)蛋白前体蛋白(LAR protein precursor)同源. 小鼠HCV NS5ABP37基因序列被美国核苷酸数据库 GenBank 收录, 收录号为AY234860.

结论: 成功确定、克隆了小鼠的NS5ABP37基因序列, 并证实与白细胞抗原相关蛋白前体蛋白具有一定的同源性. 这一结果, 为进一步阐明小鼠的NS5ABP37基因的功能, 阐

明HCV感染的发病机制奠定了坚实的基础。

成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟. 丙型肝炎病毒非结构蛋白5A结合蛋白37小鼠同源基因的克隆化及结构分析. 世界华人消化杂志 2004;12(2): 291-297

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/291.asp>

0 引言

肝炎病毒与肝细胞之间的相互作用是病毒性肝炎发病机制的重要组成部分^[1-5]. 肝细胞获得肝炎病毒的基因、肝炎病毒蛋白的表达, 通过多种复杂的机制对于感染的肝细胞的基因表达谱产生显著的影响; 肝炎病毒蛋白与肝细胞中蛋白结合形成异二聚体或多聚体, 对于肝细胞蛋白的功能产生显著影响; 肝炎病毒作为一种简单的生物类型, 肝细胞中的蛋白与肝炎病毒DNA/RNA的结合, 对于肝炎病毒基因组的复制和表达不仅是可能的, 而且也是肝炎病毒生活周期所必需的^[6-10]. 所有这些相互作用, 对于肝炎病毒的生存至关重要, 同时也是病毒性肝炎发病机制的关键所在^[11-15]. 我们应用酵母双杂交技术对丙型肝炎病毒(HCV)的非结构蛋白5A(NS5A)在肝细胞中的结合蛋白进行了筛选, 获得了一个未知功能基因, 命名为HCV NS5A结合蛋白37(NS5ABP37)^[7], 我们利用分子生物学技术与生物信息学技术相结合的策略, 克隆了小鼠的NS5ABP37编码基因, 并对其序列进行分析。

1 材料和方法

1.1 材料 pGBKT7-BD克隆载体、pGADT7-AD克隆载体、pGBKT7-53对照质粒、pGBKT7-Lam对照质粒, *Saccharomyces cerevisiae* AH109酵母株、Y187酵母株(K1612-1)、预转化入酵母的对照质粒pGBKT7-53(AH109)、编码DNA-BD/鼠p53融合蛋白、pTD1-1(Y187)、质粒pACT2中编码AD/SV40大T抗原融合蛋白、预转化的肝细胞cDNA文库(Y187)、质粒pACT2表达AD/cDNA文库融合蛋白(PT3183-1). 酵母YPDA培养基、SD/-Trp、SD/-Leu、SD/-Trp/-Leu、SD/-Trp/-Leu/-His、SD/-Trp/-Leu/-His/-Ade、X- α -半乳糖苷酶(Gal)等购自Clontech公司. 半硫酸腺苷、醋酸锂购自Sigma公司. 抗c-myc单克隆抗体本室自制. 由购自ATCC的1-9E10.2杂交瘤产生, HepG2细胞为本室保存细胞株^[7].

1.2 方法

1.2.1 诱饵质粒载体的构建及酵母配合实验 人HCV NS5A结合蛋白37(NS5ABP37)的基因克隆化见文献^[7].

1.2.2 小鼠HCV NS5ABP37同源基因的克隆化 根据生物信息学分析结果, 确定NS5ABP37小鼠同源基因序列. 对蛋白质一级结构的特点进行生物信息学分析^[16-23].

2 结果

2.1 小鼠HCV NS5ABP37同源基因的克隆化 NS5ABP37

小鼠同源基因序列分析结果表明, 小鼠NS5ABP37基因开放读码框架(ORF)为1 488 nt, 编码产物由495 aa组成(图1). 计算分子量为54 583.67道尔顿, 等电点(pI)为4.70. 小鼠HCV NS5ABP37基因序列被美国核苷酸数据库GenBank收录, 收录号为AY234860.

对于小鼠HCV NS5ABP37蛋白的同源性蛋白数据库进行搜索, 发现与白细胞抗原相关(leukocyte antigen related, LAR)蛋白前体蛋白(LAR protein precursor), 即蛋白酪氨酸磷酸酶Lar前体(protein-tyrosine phosphatase Lar precursor)或称为蛋白酪氨酸磷酸盐磷酸水解酶(protein-tyrosine-phosphate phosphohydrolase, dLAR)具有高度的同源性. 这种同源性提示了小鼠HCV NS5ABP37蛋白功能的特点.

```

ATG ACG GAA CCC GAG AAT GTC GCC TCA GAG
M T E P E N V A S E
GTG TAC CAT GGG CCT GAG CTG GAG TGC ACG
V Y H G P E L E C T
GTT GGC AAC CTG CTG CCT GGA ACT GTG TAC
V G N L L P G T V Y
CGC TTC AGA GTG CGA GCT CTG AAT GAC GGA
R F R V R A L N D G
GGG TAC GGT CCC TAC TCT GAT GTG TCA GAA
G Y G P Y S D V S E
ATC ACC ACT GCC GCA GGG CCC CCT GGG CAG
I T T A A G P P G Q
TGC AGA GCA CCG CGT GTC TCC TTC ACG CCT
C R A P R V S F T P
GAC GGA TGC GTC CTG GTG GGC TGG GAG AGC
D G C V L V G W E S
CCT GCG AGC CCT GGT GCC GAC ATC TCC GAA
P A S P G A D I S E
TAC AGG TTG GAG TGG GGA GAA GAT GAA CAG
Y R L E W G E D E Q
TCC TTA GAA CTC GTT TAT CAT GGT CCA GAC
S L E L V Y H G P D
ACC TGC TTT GAG ATG CGA GAT CTG TTG CCT
T C F E M R D L L P
GCT GCA CAG TAT TGC TGC AGA CTA CAG GCC
A A Q Y C C R L Q A
TTC AAT CCA GCA GGC GCA GGG CCA TAT AGT
F N P A G A G P Y S
GAG CTT GTC CAC TGC CAG ACA CCA GCC TCT
E L V H C Q T P A S
GCC CCC GAC CCT GTC TCC ACT CTG TGT GTC
A P D P V S T L C V
CTG GAG GAG GAG CCC CCC AGT GCC CAC CCA
L E E E P P S A H P
GAC TCA CCC TCT GTG TGC CTT GTA CTG AAC
D S P S V C L V L N

```

TGG GAA GAG CCG TGC AAT AAT GGG TCT GAA
 W E E P C N N G S E
 ATC CTT GCT TAT AAC ATC GAT CTG GGA GAC
 I L A Y N I D L G D
 AGC TGC ATT ACT GTG GGC AAC ACT ACC ACA
 S C I T V G N T T T
 CAC GTG ATG AAG AAC CTC CTT CCA GAA ACG
 H V M K N L L P E T
 ACA TAC CGG ATC AGA ATT CAG GCT ATC AAT
 T Y R I R I Q A I N
 GAA ATT GGA GTT GGA CCA TTT AGT CAG TTC
 E I G V G P F S Q F
 ATT AAA GCA AAA ACT CGG CCA TTA CCG CCT
 I K A K T R P L P P
 TCG CCT CCT AGG CTT GAG TGT GCT GCG TCT
 S P P R L E C A A S
 GGT CCT CAG AGC CTG AAG CTC AAG TGG GGA
 G P Q S L K L K W G
 GAC AGT AAC TCC AAG ACA CAT GCT GCT GGT
 D S N S K T H A A G
 GAC ATG GTG TAC ACA CTA CAG CTG GAA GAC
 D M V Y T L Q L E D
 AGG AAC AAG AGG TTT ATC TCA ATC TAC CGA
 R N K R F I S I Y R
 GGA CCC AGC CAC ACC TAC AAG GTC CAG AGA
 G P S H T Y K V Q R
 CTG ACA GAG TTT ACC TGC TAC TCC TTC AGG
 L T E F T C Y S F R
 ATC CAG GCA ATG AGC GAG GCA GGG GAG GGG
 I Q A M S E A G E G
 CCT TAC TCA GAA ACC TAC ACC TTC AGC ACA
 P Y S E T Y T F S T
 ACC AAA AGC GTG CCT CCC ACC CTC AAA GCA
 T K S V P P T L K A
 CCT CGA GTG ACG CAG TTA GAA GGG AAT TCC
 P R V T Q L E G N S
 TGT GAA ATC TTC TGG GAG ACG GTA CCA CCG
 C E I F W E T V P P
 ATG AGA GGC GAC CCT GTG AGC TAC GTT CTA
 M R G D P V S Y V L
 CAG GTG CTG GTT GGA AGA GAC TCT GAG TAC
 Q V L V G R D S E Y
 AAG CAG GTG TAC AAG GGA GAA GAA GCC ACA
 K Q V Y K G E E A T
 TTC CAA ATC TCA GGC CTC CAG AGC AAC ACA
 F Q I S G L Q S N T
 GAT TAC AGG TTC CGC GTG TGT GCC TGC CGC
 D Y R F R V C A C R

CGC TGT GTG GAC ACG TCT CAG GAG CTC AGT
 R C V D T S Q E L S
 GGC GCG TTC AGC CCC TCT GCG GCT TTC ATG
 G A F S P S A A F M
 TTA CAA CAG CGT GAG GTT ATG CTT ACA GGG
 L Q Q R E V M L T G
 GAC CTG GGA GGC ATG GAA GAG GCC AAG ATG
 D L G G M E E A K M
 AAG GGC ATG ATG CCC ACC GAC GAA CAG TTT
 K G M M P T D E Q F
 GCT GCA CTC ATC GTG CTT GGC TTC GCG ACC
 A A L I V L G F A T
 CTG TCC ATT TTG TTT GCC TTT ATA TTA CAG
 L S I L F A F I L Q
 TAC TTC TTA ATG AAG TAA
 Y F L M K *

图 1 小鼠 NS5ABP37 基因序列及其编码产物序列.

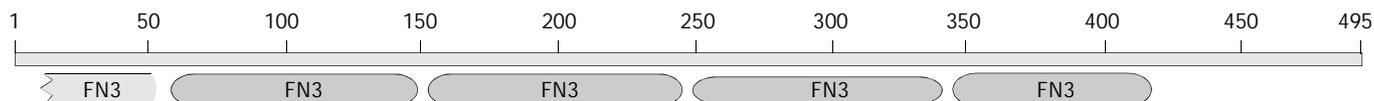
2.2 人、小鼠 HCV NS5ABP37 蛋白一级结构序列的同源性比较 对于人 HCV NS5ABP37(AF543840)和小鼠 NS5ABP37基因序列的蛋白质一级结构序列的同源性进行比较, 人和小鼠的 NS5ABP37 蛋白质一级结构的同源性为 90.91%(450/495)(图 2).

人 MTEPENVASEVYHGPELECTVGNLLPGTVYRFRVR
 小鼠 -----D-----
 人 ALNDGGYGPYSDVSEITTAAGPPGQCRAPRVSFTP
 小鼠 -----CI-C--
 人 DGCVLVGWESPASPGADISEYRLEWGEDEQSLELV
 小鼠 -----D-S-----E-----I
 人 YHGPDTCFEMRDLLPAAQYCCRLQAFNPAGAGPYS
 小鼠 -----R--I-----
 人 ELVHCQTPASAPDPVSTLCVLEEEPPSAHPDPSV
 小鼠 --L-----LD-Y----A
 人 CLVLNWEEPCNNGSEILAYNIDLGDSCITVGNTTT
 小鼠 -----T-----TS-----M
 人 HVMKNLLPETTYRIRIQAINIIGVGPFSQFIKAKT
 小鼠 -----D-----A-----
 人 RPLPPSPRLECAASGPQSLKLGWDSNSKTHAAG
 小鼠 -----L-----A-----E
 人 DMVYTLQLEDNRNKRIFISYRGPSTHYKVQRLTEFT
 小鼠 -I-----
 人 CYSFRIQAMSEAGEGYPYSETYTFSTTKSVPPTLKA
 小鼠 -----A-----F-----I--
 人 PRVTQLEGNSCEIFWETVPPMRGDPVSYVLQVLVG
 小鼠 -----L-----S-K----N-I-----

人 RDSEYKQVYKGE EATFQISGLQSN TDYRFRVCACR
 小鼠 -E-----T-----
 人 RCVDTSQELSGAFSPSA AFMLQQREV MLTGDLGGM
 小鼠 -L-----V-R-E-----MG--
 人 EEAKMKGMPTDEQFAALIVLGFATLSILFAFILQ
 小鼠 DD-K-S-----
 人 YFLMK
 小鼠 -----

2.3 小鼠 HCV NS5ABP37 同源基因保守结构位点的生物信息学分析 在小鼠 NS5ABP37 蛋白质一级结构序列中发现了一系列的纤维连接蛋白 3 型结构域(fibronectin type 3 domain, Fn-III), Fn-III 是血浆蛋白纤维连接蛋白(Fn)结构内部的 3 种重复结构序列之一. 大约 2% 的动物蛋白分子结构中含有 Fn-III 重复序列结构, 包括细胞内蛋白、细胞外基质蛋白、跨膜细胞因子受体、酪氨酸磷酸酶受体以及黏附分子等. 在细菌的糖基水解酶分子结构中也含有 Fn-III 样结构域(图 3).

图 2 人和小鼠 HCV NS5A 结合蛋白 37 蛋白一级结构序列的比较.



CD-Length = 93 residues, 100.0% aligned

Score = 56.9 bits (136), Expect = 5e-09

小鼠 NS5ABP37: 58 PGQCRAPRV SFTP DGCVLV GWESPASPGADISEYRLEW---GEDEQSLELVYHGPDTCFE 114

Fn-III: 1 PSPPTNLRVTDVTSTSVTL SWTPPEDDGGPITGYVVEYREK GSGDWKEVEVTPGSETSYT 60

小鼠 NS5ABP37: 115 MRDLLPAAQYCCRLQAFNPAGAGPYSELVHCQT 147

Fn-III: 61 LTGLKPGTEYEFVRVAVNGGGESPPSESVTVTT 93

CD-Length = 93 residues, 100.0% aligned

Score = 52.2 bits (124), Expect = 1e-07

小鼠 NS5ABP37: 152 PDPVSTLCVLEEEPPSAHPDSPSVCLVLNWEPCNNGSEILAYNIDLGDSC-----I 203

Fn-III: 1 PSPPTNLRVTDVTSTSVTL SWTPPEDDGGPITGYVVEYREK GSGDWKEVEV 51

小鼠 NS5ABP37: 204 TVGNTTTHVMKNLLPETTYRIRIQAIN EIGVGPFSQFIKAKT 245

Fn-III: 52 TPGSETSYTLTGLKPGTEYEFVRVAVNGGGESPPSESVTVTT 93

CD-Length = 93 residues, 100.0% aligned

Score = 49.5 bits (117), Expect = 8e-07

小鼠 NS5ABP37: 249 PPSPPRLECAASGPQSLKLGWDSNSKTHAAGDMVYTLQLED RNK---RFISIYRGP SHT 305

Fn-III: 1 PSPPTNLRVTDVTSTSVTL SW--TPPEDDGGPITGYVVEYREK GSGDWKEVEVTPGSETSYT 58

小鼠 NS5ABP37: 306 YKVQRLTEFTCYSFRIQAMSEAGEG PYSETYTFST 340

Fn-III: 59 YTLTGLKPGTEYEFVRVAVNGGGESPPSESVTVTT 93

CD-Length = 93 residues, only 47.3% aligned

Score = 48.4 bits (114), Expect = 2e-06

小鼠 NS5ABP37: 10 EVYHGPELECTVGNLLPGTVYRFRVRALNDGGYGPYSDVSEITT 53

Fn-III: 50 EVTPGSETSYTLTGLKPGTEYEFVRVAVNGGGESPPSESVTVTT 93

CD-Length = 93 residues, 81.7% aligned

Score = 45.7 bits (107), Expect = 1e-05

小鼠 NS5ABP37: 345 PPTLKAPRV TQLEGNSCEIFWETVPPMRGDPVSYVLQVLVGRDSEYKQVYK--GEEATFQ 402

Fn-III: 1 PSPPTNLRVTDVTSTSVTL SWTPPEDDGGPITGYVVEYREK GSGDWKEVEVTPGSETSYT 60

小鼠 NS5ABP37: 403 ISGLQSN TDYRFRVCA 418

Fn-III: 61 LTGLKPGTEYEFVRVRA 76

CD-Length = 83 residues, 84.3% aligned

Score = 50.9 bits (121), Expect = 3e-07

小鼠 NS5ABP37: 177 LVLNWEPCNNGSEILAYNIDLGD-----SCITVGN TTTTHVMKNLLPETTYRIRIQA 228

Fn-III: 14 LTLWSPPPDGNGPITGYEVEYQPKNSGEEWNEITVPGTTT SYTLTGLKPGTEYEFVRVQA 73

小鼠 NS5ABP37: 229 INEIGVGPFS 238

Fn-III: 74 VNGGGNGPPS 83

CD-Length = 83 residues, 98.8% aligned
Score = 44.7 bits (105), Expect = 2e-05

小鼠 NS5ABP37: 62 RAPRVSFTPDGCVLVGWESPASPGADISEYRLEW---GEDEQSLELVYHGPDTCFEMRDL 118
Fn-III: 2 TNLTVTDVTSTSLTSLWSPPPDGNGPITGYEVEYQPKNSGEEWNEITVPGTTTTSYTLTGL 61

小鼠 NS5ABP37: 119 LPAAQYCCRLQAFNPAGAGPYS 140
Fn-III: 62 KPGTEYEV RVQAVNGGGNGPPS 83
CD-Length = 83 residues, only 39.8% aligned
Score = 41.6 bits (97), Expect = 2e-04

小鼠 NS5ABP37: 14 GPELECTVGNLLPGTVYRFRVRALNDGGYGPYS 46
Fn-III: 51 GTTTSYTLTGLKPGTEYEV RVQAVNGGGNGPPS 83
CD-Length = 83 residues, 84.3% aligned
Score = 41.2 bits (96), Expect = 2e-04

小鼠 NS5ABP37: 351 PRVTQLEGNSCEIFWETVPPMRGDPVSYVLQVLVGRDSEYKQVY--KGEEATFQISGLQS 408
Fn-III: 4 LTVTDVTSTSLTSLWSPPPDGNGPITGYEVEYQPKNSGEEWNEITVPGTTTTSYTLTGLKP 63

小鼠 NS5ABP37: 409 NTDYRFRVCA 418
Fn-III: 64 GTEYEV RVQA 73
CD-Length = 83 residues, 100.0% aligned
Score = 37.8 bits (87), Expect = 0.003

小鼠 NS5ABP37: 252 PPRLECAASGPQSLKCLKWGDSNSKTHAAGDMVYTLQLEDNRNKRFSIYR---GPSHTYKV 308
Fn-III: 1 PTNLTVTDVTSTSLTSLW--SPPPDGNGPITGYEVEYQPKNSGEEWNEITVPGTTTTSYTL 58

小鼠 NS5ABP37: 309 QRLTEFTCYSFRIQAMSEAGEGPYS 333
Fn-III: 59 TGLKPGTEYEV RVQAVNGGGNGPPS 83
CD-Length = 83 residues, 100.0% aligned
Score = 43.0 bits (100), Expect = 8e-05

小鼠 NS5ABP37: 58 PGQCRAPRVSFTPDGCVLVGWESPASPGAD-ISEYRLEWGEDEQSLELVYHGP--DTCFE 114
Fn-III: 1 PPPSNLRVTDVTSTSVTLWKPDDIGGYIVGYRVEYREEGSEWKEVNVTPSSTTSYT 60

小鼠 NS5ABP37: 115 MRDLLPAAQYCCRLQAFNPAGAG 137
Fn-III: 61 LTGLKPGTEYEFVRVAVNGAGEG 83
CD-Length = 83 residues, 100.0% aligned
Score = 42.6 bits (99), Expect = 1e-04

小鼠 NS5ABP37: 152 PDPVSTLCVLEEEPPSAHPDSPSVCLVLNWECP-CNNGSEILAYNIDLGDC-----I 203
Fn-III: 1 PPPSNLRVTDVTSTSVT-----LSWKPPDDIGGYIVGYRVEYREEGSEWKEVNV 51

小鼠 NS5ABP37: 204 TVGNTTTHVMKNLLPETTYRIRIQAINIIGVG 235
Fn-III: 52 TPSSTTSYTLTGLKPGTEYEFVRVAVNGAGEG 83
CD-Length = 83 residues, 100.0% aligned
Score = 41.4 bits (96), Expect = 2e-04

小鼠 NS5ABP37: 249 PPSPRLECAASGPQSLKCLKWGDSNSKTHAAGDMVYTLQLEDNRNKRFSIYRGPS--HTY 306
Fn-III: 1 PPPSNLRVTDVTSTSVTLW-KPPDDIGGYIVGYRVEYREEGSEWKEVNVTPSSTTSY 59

小鼠 NS5ABP37: 307 KVQRLTEFTCYSFRIQAMSEAGEG 330
Fn-III: 60 TLTGLKPGTEYEFVRVAVNGAGEG 83
CD-Length = 83 residues, 91.6% aligned
Score = 40.3 bits (93), Expect = 5e-04

小鼠 NS5ABP37: 345 PPTLKAPRVTQLEGNSCEIFWETVPPMRGDPVSYVLQVLVGRDSEYKQVYK--GEEATFQ 402
Fn-III: 1 PPPSNLRVTDVTSTSVTLWKPDDIGGYIVGYRVEYREEGSEWKEVNVTPSSTTSYT 60

小鼠 NS5ABP37: 403 ISGLQSN TDYRFRVCA 418
Fn-III: 61 LTGLKPGTEYEFVRA 76
CD-Length = 83 residues, only 34.9% aligned
Score = 39.1 bits (90), Expect = 0.001

小鼠 NS5ABP37: 15 PELECTVGNLLPGTVYRFRVRALNDGGYG 43
Fn-III: 55 STTSYTLTGLKPGTEYEFVRVAVNGAGEG 83

图3 小鼠 NS5ABP37 保守结构位点的分析.

3 讨论

HCV 属于 RNA 病毒, 所以其发病机制与乙型肝炎病毒这种 DNA 病毒是不同的, 没有病毒 DNA 与肝细胞基因组 DNA 整合、对于宿主基因组的异常调节的环节^[24-30]. HCV 感染的发病机制, 更多的是通过病毒的 RNA、蛋白质成分对于肝细胞的异常调节而实现的. 因此, 研究 HCV 与肝细胞之间的相互调节的分子生物学机制具有十分重要的意义. 在 HCV 基因组编码的一系列的和非结构蛋白中, 非结构蛋白 5A 是一种具有多种生物学功能的蛋白类型. 体外的细胞转染试验结果表明, NS5A 基因转染可以引起细胞系、甚至原代细胞发生恶性转化, NS5A 转基因小鼠也发生肝细胞癌. 所有这些证据都表明 NS5A 蛋白对于肝细胞的信号转导、细胞周期、细胞凋亡等环节具有显著的调节作用^[7, 28]. HCV 对于肝细胞影响的机制很复杂, 其中之一就是 HCV NS5A 蛋白与肝细胞中的蛋白之间的结合, 改变了肝细胞内正常的信号转导途径^[31-38]. 我们在探索 NS5A 蛋白结合的肝细胞内的蛋白类型时, 发现了一种未知功能蛋白可以与 HCV NS5A 蛋白结合, 命名为 NS5ABP37. 本项研究, 我们应用生物信息学技术结合分子生物学技术, 克隆、鉴定了小鼠的 NS5ABP37 同源基因. 通过生物信息学技术分析, 发现小鼠和人的 NS5ABP37 基因序列具有高度的同源性. 同时发现 NS5ABP37 蛋白与 LAR 具有高度的同源性, 提示 NS5ABP37 蛋白可能有酪氨酸磷酸酶的催化活性^[39]. 另外, 在蛋白质一级结构的分子中发现, NS5ABP37 分子结构中存 5 段纤维连接蛋白 III 型结构位点, 说明 NS5ABP37 具有细胞外基质蛋白的结构特点. 这些生物信息学推测的结果, 有待于进一步的实验研究证实.

未知功能基因的克隆化是研究病毒性肝炎发病机制的重要的创新知识的源泉. 关于肝炎病毒结合蛋白的筛选, 目前酵母双杂交技术系统 3 得到了广泛的应用. 经过多年的改进, 其筛选的效率和准确性已经有了可靠的保证. 结合体外的免疫^[40-45]共沉淀技术的研究, 确立蛋白-蛋白之间的相互作用已经有了可靠的保证. 因为正常的肝细胞中没有这些肝炎病毒的蛋白, 当肝细胞突然获得了这些肝炎病毒蛋白之后, 通过蛋白-蛋白之间的结合, 对于肝细胞的正常的生物学功能就会产生显著的影响. 比如肝炎病毒蛋白结合的是一种蛋白酶类, 如本项研究的结果提示 NS5ABP37 可能具有酪氨酸磷酸酶的活性, 可能就会改变了这种蛋白酶的活性; 如果肝炎病毒蛋白结合的对象是一种蛋白酶结合的底物蛋白, 就会改变这种蛋白作为底物蛋白的性质. 这样, 或许还通过影响肝细胞中蛋白的正常的细胞内转位, 从而改变了肝细胞的正常的信号转导途径, 改变了细胞的生长、凋亡, 引起肝细胞的病变, 甚至是恶性转化. NS5ABP37 蛋白具有 Fn-III 结构位点可能具有十分重要的生物学意义. 生物信息学分析结果表明, NS5ABP37 蛋白与 LAR 蛋白之间具有一定的同源性. 研究表明, LAR 蛋白分子结构中也有 Fn-III 位点结构. 利用噬菌体 DNA

文库和黏粒基因组 DNA 克隆技术, O' Grady et al^[39]对于人白细胞普通抗原相关分子(leukocyte-common antigen-related molecule, LAR)酪氨酸磷酸酶(tyrosine phosphatase)的结构进行了研究. LAR 基因由 33 个外显子组成, 大小为 85 kb. 外显子 2 编码信号肽序列以及成熟 LAR 蛋白的前 4 个氨基酸残基. 外显子 3-7 编码免疫球蛋白样结构位点, 外显子 8-17 编码 8 个 Fn-III 位点. 外显子 18-22 编码膜相关和跨膜位点, 外显子 23-33 编码 2 个保守的酪氨酸磷酸酶位点. 外显子 1 的功能还没有确定. 逆转录聚合酶链反应扩增结果表明在外显子 13 的第 5 个 FnIII 结构域可能存在不同的剪接体. RNase 保护分析结果表明, 人 LAR mRNA 外显子 13 的剪切是主要的剪切类型^[46-50]. 在 LAR mRNA 的第 4、5、6、7 个 FnIII 位点区也可能存在着剪切. 这些发现有助于研究 LAR 细胞外围点的功能. 这些结构上的类似, 有助于推测 NS5ABP37 蛋白的可能的生物学功能. 但是, 至于 NS5ABP37 蛋白确切的结构和功能, 以及 NS5ABP37 蛋白在 HCV 感染中所发挥的病理生理学作用, 必须通过进一步的实验加以证实和发掘.

4 参考文献

- 1 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
- 2 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
- 3 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研究进展. 世界华人消化杂志 2002;10:215-217
- 4 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
- 5 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
- 6 王琳, 李克, 成军, 陆荫英, 张健, 洪源, 刘妍, 王刚, 钟彦伟, 段惠娟, 芮莉莉. 丙型肝炎病毒核心蛋白与载脂蛋白 AI 结合的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:1018-1021
- 7 王琳, 李克, 成军, 陆荫英, 张健, 刘妍, 王刚, 洪源, 王贺, 芮莉莉. 筛选与克隆丙型肝炎病毒 NS5A 蛋白结合蛋白基因. 解放军医学杂志 2003;28:50-52
- 8 李克, 王琳, 成军, 张玲霞, 段惠娟, 陆荫英, 杨继珍, 刘妍, 洪源. 酵母双杂交技术筛选克隆丙型肝炎病毒 NS3 蛋白结合蛋白. 解放军医学杂志 2003;28:31-33
- 9 王琳, 李克, 成军, 陆荫英, 张健, 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
- 10 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
- 11 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
- 12 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
- 13 成军. 慢性丙型病毒性肝炎肝脏脂肪变的机制及其意义. 世界华人消化杂志 2002;10:999-1003
- 14 李莉, 成军, 李梵, 王建军, 张健, 吴勤, 韩萍, 陈国凤, 纪冬, 李克. 慢性丙型病毒性肝炎脂肪变的临床与病理学特点. 世界华人消化杂志 2002;10:1009-1013
- 15 张健, 成军, 李莉, 刘爱兵, 吴勤, 李克, 董菁, 王琳, 陆荫英. 丙型肝炎病毒感染血清载脂蛋白 AI 和 AII 水平的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:1014-1017

- 16 成军, 李莉. 清除乙型肝炎病毒的非细胞裂解机制. 世界华人消化杂志 2002;10:73-76
- 17 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结合蛋白的研究. 世界华人消化杂志 2002;10:223-225
- 18 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
- 19 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
- 20 成军. 丙型肝炎病毒致病的分子生物学机制. 解放军医学杂志 2003;28:23-27
- 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, 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
- 23 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
- 24 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
- 25 Li K, Wang L, Cheng J, Lu YY, Zhang LX, Mu JS, Hong Y, Liu Y, Duan HJ, Wang G, Li L, Chen JM. Interaction between hepatitis C virus core protein and translin protein-a possible molecular mechanism for hepatocellular carcinoma and lymphoma caused by hepatitis C virus. *World J Gastroenterol* 2003;9:300-303
- 26 牟劲松, 刘妍, 王刚, 成军, 段惠娟, 李克, 陆荫英, 王琳, 王惠芬. 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. 世界华人消化杂志 2003;11:399-403
- 27 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
- 28 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
- 29 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
- 30 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
- 31 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
- 32 成军. 病毒性肝炎发病机制中的反式调节机制. 世界华人消化杂志 2003;11:888-889
- 33 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
- 34 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
- 35 王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 杨艳杰. 丙型肝炎病毒核心蛋白上调 NIP3 基因表达研究. 世界华人消化杂志 2003;11:951-954
- 36 王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 杨艳杰. 丙型肝炎病毒核心蛋白上调细胞周期调节蛋白 *Wee1* 基因表达研究. 世界华人消化杂志 2003;11:947-950
- 37 杨倩, 刘妍, 成军, 王建军, 杨艳杰, 张树林. 丙型肝炎病毒核心蛋白上调层粘蛋白 B1 链基因启动子表达活性的研究. 世界华人消化杂志 2003;11:955-958
- 38 杨倩, 刘妍, 成军, 李克, 王建军, 洪源, 张树林. 丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白 6 上调新生多肽相关复合物 α 多肽基因的表达. 世界华人消化杂志 2003;11:959-962
- 39 O' Grady P, Krueger NX, Streuli M, Saito H. Genomic organization of the human LAR protein tyrosine phosphatase gene and alternative splicing in the extracellular fibronectin type-III domains. *J Biol Chem* 1994;269:25193-25199
- 40 刘妍, 成军, 王刚, 李克, 段惠娟, 王琳, 董菁, 洪源, 张跃新, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 应用抑制性消减杂交技术克隆丙型肝炎病毒核心蛋白反式激活基因. 解放军医学杂志 2001;26:880-883
- 41 Kataeva IA, Seidel RD 3rd, Shah A, West LT, Li XL, Ljungdahl LG. The fibronectin type 3-like repeat from the Clostridium thermocellum cellobiohydrolase CbhA promotes hydrolysis of cellulose by modifying its surface. *Appl Environ Microbiol* 2002;68:4292-4300
- 42 Sakata N, Sasatomi Y, Meng J, Ando S, Uesugi N, Takebayashi S, Nagai R, Horiuchi S. Possible involvement of altered RGD sequence in reduced adhesive and spreading activities of advanced glycation end product-modified fibronectin to vascular smooth muscle cells. *Connect Tissue Res* 2000;41:213-228
- 43 O' Farrell TJ, Pourmotabbed T. Identification of structural elements important for matrix metalloproteinase type V collagenolytic activity as revealed by chimeric enzymes. Role of fibronectin-like domain and active site of gelatinase B. *J Biol Chem* 2000;275:27964-27972
- 44 Paci E, Karplus M. Forced unfolding of fibronectin type 3 modules: an analysis by biased molecular dynamics simulations. *J Mol Biol* 1999;288:441-459
- 45 Hamill SJ, Meekhof AE, Clarke J. The effect of boundary selection on the stability and folding of the third fibronectin type III domain from human tenascin. *Biochemistry* 1998;37:8071-8079
- 46 Ingham KC, Brew SA, Huff S, Litvinovich SV. Cryptic self-association sites in type III modules of fibronectin. *J Biol Chem* 1997;272:1718-1724
- 47 Weber P, Ferber P, Fischer R, Winterhalter KH, Vaughan L. Binding of contactin/F11 to the fibronectin type III domains 5 and 6 of tenascin is inhibited by heparin. *FEBS Lett* 1996;389:304-308
- 48 Jongewaard IN, Tsai PM, Smith JW. The type III connecting segment of fibronectin contains an aspartic acid residue that regulates the rate of binding to integrin alpha 4 beta 1. *Cell Adhes Commun* 1996;3:487-495
- 49 Appel F, Holm J, Conscience JF, von Bohlen und Halbach F, Faissner A, James P, Schachner M. Identification of the border between fibronectin type III homologous repeats 2 and 3 of the neural cell adhesion molecule L1 as a neurite outgrowth promoting and signal transducing domain. *J Neurobiol* 1995;28:297-312
- 50 Busby TF, Argraves WS, Brew SA, Pechik I, Gilliland GL, Ingham KC. Heparin binding by fibronectin module III-13 involves six discontinuous basic residues brought together to form a cationic cradle. *J Biol Chem* 1995;270:18558-18562



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

