

人CD81真核表达载体的构建及在COS-7细胞中的表达

刘秋平, 贾战生, 杜德伟, 李光玉, 潘 蕾, 魏 欣, 罗新栋, 王全楚

刘秋平, 贾战生, 杜德伟, 李光玉, 潘蕾, 魏欣, 罗新栋, 王全楚, 中国人民解放军第四军医大学唐都医院全军感染病诊疗中心 陕西省西安市 710038
刘秋平, 女, 1972-10-15 生, 陕西省岐山县人, 汉族, 1996 年西安医科大学学士, 第四军医大学唐都医院感染病诊疗中心硕士, 主治医师, 主要从事病毒性肝炎发病机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30070687

项目负责人: 贾战生, 710038, 陕西省西安市灞桥区新寺路 1 号, 中国人民解放军第四军医大学唐都医院全军感染病诊疗中心. jiazsh@fmmu.edu.cn
电话: 029-3377742 传真: 029-3537377

收稿日期: 2003-09-15 接受日期: 2003-10-22

Construction of human CD81 eukaryotic expression vector and expression of the gene segment in COS-7 cell line

Qiu-Ping Liu, Zhan-Sheng Jia, De-Wei Du, Guang-Yu Li, Lei Pan, Xing Wei, Xin-Dong Luo, Quan-Chu Wang

Qiu-Ping Liu, Zhan-Sheng Jia, De-Wei Du, Guang-Yu Li, Lei Pan, Xing Wei, Xin-Dong Luo, Quan-Chu Wang, The Center of Diagnosis and Treatment for Infectious Diseases of PLA, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, Shannxi Province, China. Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30070687
Correspondence to: Dr. Zhan-Sheng Jia, Center of Diagnosis and Treatment for Infectious Diseases of PLA, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, Shannxi Province, China. jiazsh@fmmu.edu.cn

Received: 2003-09-15 Accepted: 2003-10-22

Abstract

AIM: To construct a human CD81 eukaryotic expression vector and to analyze the expression of CD81 in COS-7 cells.

METHODS: CD81 gene from the pMD18-T-CD81 vector with double-enzyme digestion was cloned into the pVAX1 eukaryotic expression vector, named pVAX1-CD81. The recombinant vector pVAX1-CD81 and pVAX1 as controls were transfected into COS-7 cells by lipofectamine, and the transient expression product on the transfected cells was analyzed with anti-CD81 monoclonal antibody by indirect immunofluorescence assay (IFA).

RESULTS: The identification of the eukaryotic expression vector pVAX1-CD81 by PCR and restriction enzyme analysis showed that CD81 gene was rightly inserted into the vector; and the product of the CD81 gene was successfully expressed on surface of COS-7 cells.

CONCLUSION: The eukaryotic expression vector with CD81 gene is constructed and efficiently expressed in COS-7 cells. The results indicate that the transfected CD81 cells will need to further studies on the roles of CD81 in the process of HCV infection and entrance to cells.

Liu QP, Jia ZS, Du DW, Li GY, Pan L, Wei X, Luo XD, Wang QC. Construction of human CD81 eukaryotic expression vector and expression of the gene segment in COS-7 cell line. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(3):590-593

摘要

目的: 构建含人CD81基因的真核表达载体, 探讨CD81在COS-7细胞的表达, 为研究丙型肝炎病毒(HCV)与CD81相互作用奠定基础。

方法: 从我们构建的含人CD81全编码基因载体pMD18-T-CD81, 应用双酶切回收基因片段, 定向克隆入真核表达载体pVAX1; 通过脂质体介导的基因转染技术将pVAX1-CD81和空载体转入COS-7细胞; 应用抗CD81单克隆抗体通过间接免疫荧光法检测COS-7细胞的表达产物。

结果: 重组的含CD81基因的真核表达载体pVAX1-CD81经酶切和PCR鉴定分析正确, 并证明在COS-7细胞表面有效地表达CD81蛋白。

结论: 成功构建含CD81全编码基因的真核表达载体pVAX1-CD81, 并在COS-7细胞表面有效表达CD81分子, 该转染细胞可作为研究CD81在HCV感染中的作用提供模型。

刘秋平, 贾战生, 杜德伟, 李光玉, 潘蕾, 魏欣, 罗新栋, 王全楚. 人CD81真核表达载体的构建及在COS-7细胞中的表达. *世界华人消化杂志* 2004;12(3):590-593

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/590.asp>

0 引言

丙型肝炎病毒(HCV)为单股、正链、RNA包膜病毒, 其包膜糖蛋白与细胞表面受体或辅助分子相互作用, 介导病毒入胞是HCV感染致病的关键^[1-5]. 目前的研究表明, CD81作为HCV的候选受体之一可能在HCV感染靶细胞过程中发挥重要作用^[6-8]. CD81分子又称增生抗体靶抗原-1(TAPA-1), 属于四次跨膜超家族成员(TM4-SF), 是一种细胞膜表面黏附分子, 分布于多种细胞, 参与细胞的黏附、变形、活化、增生及信号转导等多种功能^[9-11]. 我们已成功从人Molt-4细胞克隆了CD81的全编码基因, 并经酶切鉴定和序列分析表明其核苷酸序列完全正确. 本研究通过构建人CD81基因真核表达载体, 转染COS-7细胞, 探讨CD81分子的表达, 为研究HCV与CD81的相互作用, 阐明HCV感染细胞的机制提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 pMD18-T-CD81载体由本室先前构建, 真核表达载体pVAX1由本室王福祥博士惠赠, 大肠杆菌

菌株 JM109 由本室保存. 绿猴 COS-7 细胞由第四军医大学免疫教研室刘雪松博士惠赠. DNA 抽提纯化试剂盒购自华舜生物工程有限公司, 限制性内切酶 BamH I, Xba I, T4 DNA 连接酶为 Takara 公司产品. Lipofectamine 2000 购自 Invitrogen 试剂公司, 细胞培养所用 RPMI 1640, DMEM(高糖型), 回收纯化试剂盒为 Gibco 公司产品. 鼠抗人的 CD81 mAb 为 Labvision 公司产品, FITC 标记的羊抗鼠的 IgG 购自华美公司.

1.2 方法 用 BamH I 和 Xba I 双酶切 pMD18-T-CD81, 回收大小约 729 bp 的 CD81 基因片段, 同时准备 pVAX1 载体, 确定二者的连接比例和条件, 应用 T4DNA 连接酶在 16 °C 条件下连接目的基因与载体, 转化大肠杆菌 JM109, 次日挑取卡那霉素抗性的阳性克隆, 扩增、提取质粒, 获得含 CD81 的真核表达质粒 pVAX1-CD81. 应用 BamH I 和 Xba I 双酶切重组的真核表达质粒 pVAX1-CD81. 应用先前研究设计合成的引物, 以 pVAX1-CD81 为模版, 进行 PCR 反应, 其反应体系为: pVAX1-CD81 2 µL, 上、下游引物各 1 µL, Taq DNA 聚合酶 0.5 µL, dNTPs 2 µL, MgCl₂ 1.5 µL, Buffer 2 µL, 去离子水 10 µL 至终体积 20 µL. 反应参数为: 95 °C 预变性 3 min, 94 °C 变性 30 s, 64 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 35 个循环, 72 °C 再延伸 10 min. 对重组质粒双酶切产物、PCR 产物用 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳. 取传代的绿猴 COS-7 细胞, 用含 100 ml/L 胎牛血清(含 1×10^3 U/L 青霉素及 100 mg/L 链霉素)的 DMEM 培养基 37 °C 50 ml/L CO₂ 培养, 细胞在转染前 24 h 传代, 待细胞汇合达 80% 时, 更换为无血清含 Lipofectamine 2000 包裹重组质粒 pVAX1-CD81 的 DMEM 培养液, 以空载体 pVAX1 为对照, 具体操作按说明书进行, 转染 6 h 后更换为含血清的 DMEM 继续培养. 应用转染 pVAX1-CD81 的 COS-7 细胞, 分别培养 24, 48, 72, 和 144 h, 制备细胞爬片, 冷丙酮固定, 吹干. 以鼠抗人的 CD81 mAb 为一抗, 进行间接免疫荧光染色, 荧光显微镜观察, 以空载体 pVAX1 作为阴性对照.

2 结果

2.1 真核表达载体 pVAX1-CD81 的鉴定 pMD18-T-CD81 载体为本室先前构建的原核载体, 为使 CD81 能在真核细胞表达, 我们重组了真核表达载体 pVAX1-CD81, 其两端分别有 BamH I 和 Xba I 酶切位点. 对 pVAX1-CD81 应用双酶鉴定, 切下一约 729 bp 的小片段和约 3 000 bp 的载体大片断, 与预期结果完全相符. 应用 PCR 扩增, 得到约 729 bp 的片段, 而对照组(空载体 pVAX1)用相同的引物, 未见条带出现(图 1). 结果表明 CD81 全序列基因成功插入真核表达载体.

2.2 pVAX1-CD81 在 COS-7 细胞中的表达 pVAX1 为一瞬时高效真核载体, 缺乏抗性筛选. 重组质粒 pVAX1-CD81 经脂质体介导转染 COS-7 细胞, 选取转染不同时间制备的细胞爬片, 进行间接免疫荧光检测. 结果表

明, 转染 pVAX1-CD81 后 48 和 72 h, COS-7 细胞表面有较强的绿色荧光, 而空载体 pVAX1 的细胞膜上未见荧光(图 2), 延长培养时间细胞膜荧光强度明显减弱. 结果说明, 我们成功地克隆人 CD81 全序列基因, 构建的真核表达载 pVAX1-CD81 可有效地在绿猴 COS-7 细胞表达人 CD81 分子, 该转染细胞可为进一步研究 HCV 与 CD81 的相互作用提供受体重建模型.

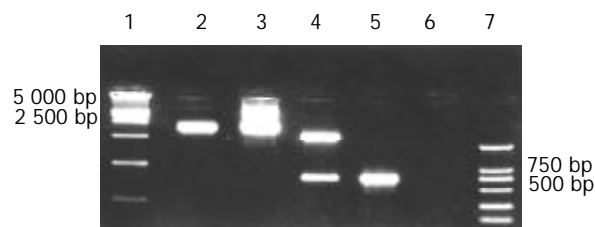


图1 重组质粒pVAX1-CD81的酶切及PCR鉴定. 1: Marker(DL 15 000); 2: pVAX1-CD81/BamH I; 3: pVAX1-CD81; 4: pVAX1-CD81/BamH I + Xba I; 5: pVAX1-CD81/PCR; 6: pVAX1/PCR; 7: Marker(DL 2 000).

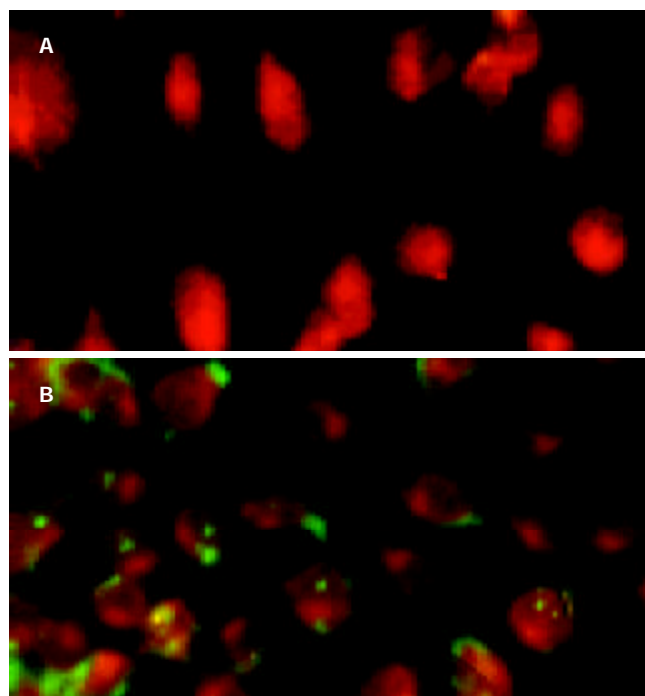


图2 pVAX1-CD81 转染 48 h 的 COS-7 细胞 IF $\times 200$. A: 转染 pVAX1; B: 转染 pVAX1-CD81.

3 讨论

HCV 是引起慢性肝脏疾病的主要原因之一^[12-17], HCV 感染后约 70% 转化为慢性^[18-22], 并与肝硬化、肝衰竭和肝癌的发生密切相关^[23-25]. 与大多数包膜病毒一样, HCV 可能通过其表面包膜糖蛋白与靶细胞表面受体分子结合, 并进入肝细胞是感染致病的关键^[1, 2, 5, 26]. 因此, 克隆 HCV 受体对于研究 HCV 包膜糖蛋白与受体分子的作用, 探讨 HCV 感染、发病机制和抗病毒治疗以及疫苗制备具有重要意义. 近年来, 国外学者在缺乏天然病毒颗粒的条件下, 应用真核细胞表达 HCV E 2 包膜糖蛋白、E1-E2 糖蛋白脂质体、类病毒颗粒等^[27-32], 在

体外模拟研究病毒与细胞的相互作用,相继发现细胞表面CD81、低密度脂蛋白受体(LDL-R)^[33-37]、B1型清道夫受体(SR-BI)^[38-39]、树突状细胞特异性细胞间黏附分子1的非整合素分子(DC-SIGN)和淋巴细胞特异性细胞间黏附分子1的非整合素分子(LC-SIGN)^[40-42]等参与了对HCV的结合和黏附,可作为HCV的候选受体。CD81是目前关于HCV感染入胞研究最多的候选受体。CD81在四次跨膜过程中形成两个胞外区EC1(extro-cellular domain 1)和EC2(extro-cellular domain 2)。近年来,许多学者应用重组的HCV E1和E2包膜蛋白在体外研究结果表明,在HCV结合过程中CD81的两个膜外区EC₂和EC₁各起不同作用,其中EC₂是HCV-E₂的识别结合部位,EC₁不参与HCV-E₂的结合。应用可溶性E2分子和抗CD81单克隆抗体可以阻断这种结合^[28-29]。然而,HCV-E2与CD81的结合能否导致HCV进入靶细胞,并在细胞内复制、致病还不清楚。由于缺乏HCV体外感染的传代细胞模型,限制了对HCV感染致病机制的研究。

应用受体重建方法作为确定病毒受体地位的重要方法之一,已在多种病毒受体研究中得到证明^[43-47]。通过基因转染方法改造非易感细胞,使其表达病毒受体,并获得易感性是受体重建的基本思路。我们先前的研究表明,成功地从富含人CD81的Molt-4细胞克隆了人CD81全序列基因,构建了载体pMD18-T-CD81,两端分别带有BamH I和Xba I酶切位点,并经测序分析其核苷酸与GeneBank公布的序列完全一致。为了进一步探讨CD81在HCV的感染中的作用,本研究应用基因重组方法成功构建了含人CD81全序列基因的真核表达载体pVAX1-CD81,并在绿猴肾COS-7细胞证明,转染的COS-7细胞在转染后48 h能够有效地表达人CD81分子。有研究表明,CD81分子具有种属特异性,不同种属CD81与HCV亲和力的大小不同,对HCV易感性的高低也不一致^[29]。COS-7细胞为非洲绿猴肾细胞的衍生细胞系,虽然猴的CD81和人的CD81高度相似,但二者的抗原性不同。本研究选择COS-7细胞为靶细胞有两方面考虑^[33]:其一,该细胞为异种细胞并不表达CD81,抗人CD81单抗与猴CD81无交叉反应;其二,体外应用HCV血清感染实验表明,COS-7细胞为非易感细胞,通过转染人CD81基因证明,pVAX1-CD81在COS-7细胞膜上可高效表达人CD81分子,如能介导HCV阳性血清感染细胞,可证实CD81的受体地位,可为进一步研究干扰阻断病毒与受体结合药物的研发及疫苗的制备提供感染细胞模型,为从分子水平阐明HCV的致病机制奠定基础。

4 参考文献

- Op De Beeck A, Cocquerel L, Dubuisson J. Biogenesis of hepatitis C virus envelope glycoproteins. *J Gen Virol* 2001;82(Pt 11):2589-2595
- Wang J, Xiang GJ, Liu BX. Effect of alpha 2b interferon on inducement of mIL-2R and treatment of HCV in PBMC from patients with chronic viral hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2003;9:751-754
- Castet V, Moradpour D. A model for the study of hepatitis C virus entry. *Hepatology* 2003;38:771-774
- Op De Beeck A, Dubuisson J. Another putative receptor for hepatitis C virus. *Hepatology* 2003;37:705-707
- Ahlquist P, Noueiry AO, Lee WM, Kushner DB, Dye BT. Host factors in positive-strand RNA virus genome replication. *J Virol* 2003;77:8181-8186
- Higginbottom A, Quinn ER, Kuo CC, Flint M, Wilson LH, Bianchi E, Nicosia A, Monk PN, McKeating JA, Levy S. Identification of amino acid residues in CD81 critical for interaction with hepatitis C virus envelope glycoprotein E₂. *J Virol* 2000;74:3642-3649
- Hofmann WP, Sarrazin C, Kronenberger B, Schonberger B, Bruch K, Zeuzem S. Mutations within the CD81-binding sites and hypervariable region 2 of the envelope 2 protein: correlation with treatment response in hepatitis C virus-infected patients. *J Infect Dis* 2003;187:982-987
- Tan YJ, Lim SP, Ng P, Goh PY, Lim SG, Tan YH, Hong W. CD81 engineered with endocytotic signals mediates HCV cell entry: implications for receptor usage by HCV in vivo. *Virology* 2003;308:250-269
- VanCompernelle SE, Levy S, Todd SC. Anti-CD81 activates LFA-1 on T cells and promotes T cell-B cell collaboration. *Eur J Immunol* 2001;31:823-831
- Soldaini E, Wack A, D' Oro U, Nuti S, Ulivieri C, Baldari CT, Abrignani S. T cell costimulation by the hepatitis C virus envelope protein E2 binding to CD81 is mediated by Lck. *Eur J Immunol* 2003;33:455-464
- Fritzscheing B, Schwer B, Kartenbeck J, Pedal A, Horejsi V, Ott M. Release and intercellular transfer of cell surface CD81 via microparticles. *J Immunol* 2002;169:5531-5537
- Zhang XX, Zhang SY, Liu J, Lu ZM, Wang Y. Expression of hepatitis C virus hypervariable region 1 and its clinical significance. *World J Gastroenterol* 2003;9:1003-1007
- 巨立中, 成军, 钟彦伟. 丙型肝炎病毒复制模型系统. *世界华人消化杂志* 2003;11:1954-1956
- Du DW, Jia ZS, Li GY, Zhou YY. HBV DNA vaccine with adjuvant cytokines induced specific immune responses against HBV infection. *World J Gastroenterol* 2003;9:108-111
- 王建军, 成军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 党晓燕, 王春花. 丙型肝炎病毒核心蛋白反式激活基因TAHCCP2的克隆. *世界华人消化杂志* 2003;11:1893-1896
- 纪冬, 成军, 王建军. 丙型肝炎病毒复制子的研究. *世界华人消化杂志* 2003;11:1014-1017
- Mao HX, Lan SY, Hu YW, Xiang L, Yuan ZH. Establishment of a cell-based assay system for hepatitis C virus serine protease and its primary applications. *World J Gastroenterol* 2003;9:2474-2479
- Zhou P, Cai Q, Chen YC, Zhang MS, Guan J, Li XJ. Hepatitis C virus RNA detection in serum and peripheral blood mononuclear cells of patients with hepatitis C. *China Natl J New Gastroenterol* 1997;3:108-110
- Tang B, Zhuang L, You J, Zhang H, Zhang L. Seven-years follow-up on trial of Interferon alpha in patients with HCV RNA positive chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2000;6 (Suppl 3):68
- Kan QC, Yu ZJ, Lei YC, Hao LJ, Yang DL. Lethiferous effects of a recombinant vector carrying thymidine kinase suicide gene on 2.2.15 cells via a self-modulating mechanism. *World J Gastroenterol* 2003;9:2216-2220
- Zhao W, Liao GY, Jiang YJ, Jiang SD. No requirement of HCV 5' NCR for HCV-like particles assembly in insect cells. *World J Gastroenterol* 2003;9:2226-2231
- Chen LK, Hwang SJ, Tsai ST, Luo JC, Lee SD, Chang FY. Glucose intolerance in Chinese patients with chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 2003;9:505-508
- Seeff LB. Natural history of chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002;36(5 Suppl 1):S35-46

- 24 Abrizi F, Poordad FF, Martin P. Hepatitis C infection and the patient with end-stage renal disease. *Hepatology* 2002;36:3-10
- 25 Kenny-Walsh E. The natural history of hepatitis C virus infection. *Clin Liver Dis* 2001;5:969-977
- 26 Tseng CT, Klimpel GR. Binding of the hepatitis C virus envelope protein E2 to CD81 inhibits natural killer cell functions. *J Exp Med* 2002;195:43-49
- 27 Forns X, Allander T, Rohwer-Nutter P, Bukh J. Characterization of modified hepatitis C virus E2 proteins expressed on the cell surface. *Virology* 2000;274:75-85
- 28 Chan-Fook C, Jiang WR, Clarke BE, Zitzmann N, Maidens C, McKeating JA, Jones IM. Hepatitis C virus glycoprotein E2 binding to CD81: the role of E1E2 cleavage and protein glycosylation in bioactivity. *Virology* 2000;273:60-66
- 29 Drummer HE, Wilson KA, Pountourios P. Identification of the hepatitis C virus E2 glycoprotein binding site on the large extracellular loop of CD81. *J Virol* 2002;76:11143-11147
- 30 Garcia JE, Puentes A, Suarez J, Lopez R, Vera R, Rodriguez LE, Ocampo M, Curtidor H, Guzman F, Urquiza M, Patarroyo ME. Hepatitis C virus (HCV) E1 and E2 protein regions that specifically bind to HepG2 cells. *J Hepatol* 2002;36:254-262
- 31 Bartosch B, Dubuisson J, Cosset FL. Infectious hepatitis C virus pseudo-particles containing functional E1-E2 envelope protein complexes. *J Exp Med* 2003;197:633-642
- 32 Hsu M, Zhang J, Flint M, Logvinoff C, Cheng-Mayer C, Rice CM, McKeating JA. Hepatitis C virus glycoproteins mediate pH-dependent cell entry of pseudotyped retroviral particles. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:7271-7276
- 33 Agnello V, Abel G, Elfahal M, Knight GB, Zhang QX. Hepatitis C virus and other flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:12766-12771
- 34 Flint M, Quinn ER, Levy S. In search of hepatitis C virus receptor(s). *Clin Liver Dis* 2001;5:873-893
- 35 Wunschmann S, Medh JD, Klinzmann D, Schmidt WN, Stapleton JT. Characterization of hepatitis C virus (HCV) and HCV E2 interactions with CD81 and the low-density lipoprotein receptor. *J Virol* 2000;74:10055-10062
- 36 Germi R, Crance JM, Garin D, Guimet J, Lortat-Jacob H, Ruigrok RW, Zarski JP, Drouet E. Cellular glycosaminoglycans and low density lipoprotein receptor are involved in hepatitis C virus adsorption. *J Med Virol* 2002;68:206-215
- 37 Hennig BJ, Hellier S, Frodsham AJ, Zhang L, Klenerman P, Knapp S, Wright M, Thomas HC, Thursz M, Hill AV. Association of low-density lipoprotein receptor polymorphisms and outcome of hepatitis C infection. *Genes Immun* 2002;3:359-367
- 38 Scarselli E, Ansuini H, Cerino R, Roccasecca RM, Acali S, Filocamo G, Traboni C, Nicosia A, Cortese R, Vitelli A. The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. *EMBO J* 2002;21:5017-5025
- 39 Bartosch B, Vitelli A, Granier C, Goujon C, Dubuisson J, Pascale S, Scarselli E, Cortese R, Nicosia A, Cosset FL. Cell entry of hepatitis C virus requires a set of co-receptors that include the CD81 tetraspanin and the SR-B1 scavenger receptor. *J Biol Chem* 2003;278:41624-41630
- 40 Pohlmann S, Zhang J, Baribaud F, Chen Z, Leslie GJ, Lin G, Granelli-Piperno A, Doms RW, Rice CM, McKeating JA. Hepatitis C virus glycoproteins interact with DC-SIGN and DC-SIGNR. *J Virol* 2003;77:4070-4080
- 41 Lozach PY, Lortat-Jacob H, de Lacroix de Lavalette A, Staropoli I, Fong S, Amara A, Houles C, Fieschi F, Schwartz O, Virelizier JL, Arenzana-Seisdedos F, Altmeyer R. DC-SIGN and L-SIGN are high affinity binding receptors for hepatitis C virus glycoprotein E2. *J Biol Chem* 2003;278:20358-20366
- 42 Gardner JP, Durso RJ, Arrigale RR, Donovan GP, Maddon PJ, Dragic T, Olson WC. L-SIGN (CD 209L) is a liver-specific capture receptor for hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:4498-44503
- 43 Wang X, Staudinger R. Interaction of soluble CD4 with the chemokine receptor CCR5. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;307:1066-1069
- 44 Zago A, Spear PG. Differences in the N termini of herpes simplex virus type 1 and 2 gDs that influence functional interactions with the human entry receptor Nectin-2 and an entry receptor expressed in Chinese hamster ovary cells. *J Virol* 2003;77:9695-9699
- 45 Shingai M, Ayata M, Ishida H, Matsunaga I, Katayama Y, Seya T, Tatsuo H, Yanagi Y, Ogura H. Receptor use by vesicular stomatitis virus pseudotypes with glycoproteins of defective variants of measles virus isolated from brains of patients with subacute sclerosing panencephalitis. *J Gen Virol* 2003;84(Pt 8):2133-2143
- 46 Neumann E, Moser R, Snyers L, Blaas D, Hewat EA. A cellular receptor of human rhinovirus type 2, the very-low-density lipoprotein receptor, binds to two neighboring proteins of the viral capsid. *J Virol* 2003;77:8504-8511
- 47 Inoue N, Winter J, Lal RB, Offermann MK, Koyano S. Characterization of entry mechanisms of human herpesvirus 8 by using an Rta-dependent reporter cell line. *J Virol* 2003;77:8147-8152

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

• 消息 •

第二届全国普通外科主任论坛会议

首届全国普通外科主任论坛以其新颖的内容获得了巨大成功,受到与会者的高度评价。会议期间成立了全国普通外科主任联谊会,并决定 2004 年 12 月中旬在武汉召开第二届全国普通外科主任论坛。会议将由裘法祖院士任名誉主席,吴孟超,刘允怡,汤钊猷,黎介寿,黄志强和郑树森等 6 位院士以及黄洁夫副部长,陈汉教授任顾问。全国普通外科主任联谊会会长冷希圣教授任大会主席,常务副会长陈孝平教授任大会执行主席。

本次会议特邀国内外著名专家对普通外科领域的前沿问题,有争议的问题进行综述,评点,介绍普通外科疾病的新进展,新技术,同时仍将邀请专家介绍外科行政管理,学科建设,课题申报,论文(特别是英文)撰写及投稿技巧,医疗纠纷防范与处理的经验。

欢迎各位同道就上述领域撰稿。稿件要求寄全文及 500-800 字论文摘要,同时寄论文的软盘一份或发电子邮件,截稿日期 2004-08-30。

稿件请寄: 陈孝平所长或张志伟副所长收, 430030, 湖北省武汉市华中科技大学附属同济医院肝胆胰外科研究所。chenxp-53@163.com

联系电话: 027-83662599

(全国普通外科主任联谊会, 中华外科学会肝脏学组 2004-02-16)