

HCBP6 对 HCV 核心蛋白反式激活作用的影响

成军, 李克, 刘妍, 王琳, 陆荫英, 钟彦伟

成军, 李克, 刘妍, 王琳, 陆荫英, 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研究重点实验室北京市 100039

成军, 男, 1963-08-17 生, 山东省淄博市人, 汉族. 1994 年北京医科大学传染病学博士, 1994-11-17/1997-12-01 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. 主要学术研究方向是肝炎病毒与肝细胞相互作用的分子生物学机制, 出版专著 5 部, 发表论文及综述 400 篇. 现任中华医学会传染病与寄生虫病学分会副主任委员、中华医学会热带病与寄生虫病学分会常委、解放军医学会传染病专业委员会委员, 中华传染病杂志副主编、《胃肠病学和肝病杂志》副主编、《热带病与寄生虫病杂志》副主编、《中华肝病杂志》、《World J Gastroenterol》编委等. 国家自然科学基金攻关项目, No. C03011402, No. C30070689, No. C39970674

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研究重点实验室. cj@genetherapy.com.cn

电话: 010-66933392 传真: 010-63801283

收稿日期: 2003-11-13 接受日期: 2003-12-16

Effects of HCBP6 protein on transactivating function of HCV core protein

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

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

Supported by National Natural Science Foundation No. C03011402, No. C30070689, No. C39970674, and Returned Scholarship of General Logistics Department of Chinese 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: 2003-11-13 Accepted: 2003-12-16

Abstract

AIM: To study the inhibitory effects of HCBP6 on the transactivating effect of HCV core protein.

METHODS: The recombinant vectors expressive HCV core protein and HCBP6 protein were constructed, respectively, by routine molecular techniques. The hepatoblastoma cell line HepG2 were co-transfected. The chloramphenicol transferase (CAT) expressive levels under the SV40 early promoter were determined by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit.

RESULTS: The recombinant vectors of pcDNA3.1(-)-HCBP6 and pcDNA3.1(-)-core were constructed, and demonstrated correctly by restriction enzyme digestion and sequencing analysis. The hepatoblastoma cell line HepG2 was transfected with the vector alone or combined, respectively. The expression level of CAT indicated that the inhibitory rate was 40.4-62.3%.

CONCLUSION: The expression of HCBP6 has inhibitory

effects on the transacting activity of HCV core protein.

Cheng J, Li K, Liu Y, Wang L, Lu YY, Zhong YW. Effects of HCBP6 protein on transactivating function of HCV core protein. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(4):809-812

摘要

目的: 研究 HCBP6 蛋白在细胞内表达时, 是否通过蛋白-蛋白之间的相互作用, 对 HCV 核心蛋白的反式激活作用产生影响.

方法: 利用常规的分子生物学技术分别构建 HCBP6 蛋白和丙型肝炎病毒(HCV)核心蛋白的真核表达载体. 酶联免疫吸附法 enzyme-linked immunosorbent assay, (ELISA) 检测 CAT 的表达水平, 间接测定 HCV 核心蛋白对于 SV40 病毒即刻早期启动子的反式激活活性.

结果: 重组表达载体 pcDNA3.1(-)-HCBP6、pcDNA3.1(-)-core 经过限制性内切酶作图分析和核苷酸序列分析证实正确无误. 转染 HepG2 细胞之后, HCV 核心蛋白的表达, 对于 SV40 病毒即刻早期启动子的转录表达活性具有显著的反式激活作用. 但是, 当与 HCBP6 蛋白的表达载体进行共转染时, SV40 病毒的即刻早期启动子的转录活性受到抑制. 重复试验得到了相似的结果. HCBP6 蛋白的表达对于 HCV 反式激活 SV40 病毒即刻早期启动转录活性的抑制率 40.4-62.3%.

结论: HCBP6 蛋白在细胞内的表达对 HCV 核心蛋白反式激活 SV40 病毒的即刻早期启动子的转录活性具有显著的抑制作用.

成军, 李克, 刘妍, 王琳, 陆荫英, 钟彦伟. HCBP6 对 HCV 核心蛋白反式激活作用的影响. *世界华人消化杂志* 2004;12(4):809-812

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/809.asp>

0 引言

丙型肝炎病毒(HCV)核心蛋白结合蛋白 6(HCBP6)是我们应用酵母双杂交(yeast-two hybrid)技术从肝细胞 cDNA 文库中筛选得到的一种与 HCV 核心蛋白能够结合的未知功能基因^[1-2]. 他位于人 22 号染色体上的不含有内含子(intron)的基因. HCBP6 蛋白也可能分布在细胞核膜的胞质侧, 其生物学功能与生物大分子细胞质/核之间的主动运输过程有关^[3-6]. HCBP6 蛋白能够上调和下调一系列不同基因的表达水平^[7]. HCBP6 蛋白对于新生多肽相关复合体 α 亚单位(NACA)的基因表达具有显著的上调

作用, 提高 4.75 倍. HCBP6 蛋白的表达的确对于 NACA 的启动子转录活性具有显著的上调作用^[8]. 因此, 认为 HCV 的核心蛋白可能通过与 HCBP6 蛋白之间的结合, 干扰细胞内正常的新生多肽的转运过程^[9-12]. 另外, HCV 核心蛋白与 HCBP6 蛋白之间的结合, 对于 HCV 核心蛋白的生物学活性也应该具有显著的影响, 但是目前还缺乏这方面的研究资料. 我们利用细胞共转染技术, 证实 HCBP6 蛋白在细胞内的表达, 可以抑制 HCV 核心蛋白对于 SV40 病毒即刻早期启动子的转录表达活性.

1 材料和方法

1.1 材料 pcDNA3.1(-)真核表达载体(Invitrogen 公司)、SV40 病毒即刻早期启动子指导的 CAT 的报告基因表达载体 pCAT3 载体购自 Promega 公司, 脂质体 FuGENE6 购自 Roche 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(Promega 公司), 玻璃奶 DNA 回收试剂盒(博大公司), CAT ELISA 试剂盒(Roche 公司). 引物合成、核苷酸序列测序由上海博亚公司完成. E. coli DH5 α , 酵母细胞瘤细胞系 HepG2 为本室保存. pcDNA3.1(-)-HCBP6、pcDNA3.1(-)-core 构建和鉴定见文献^[7, 13-15].

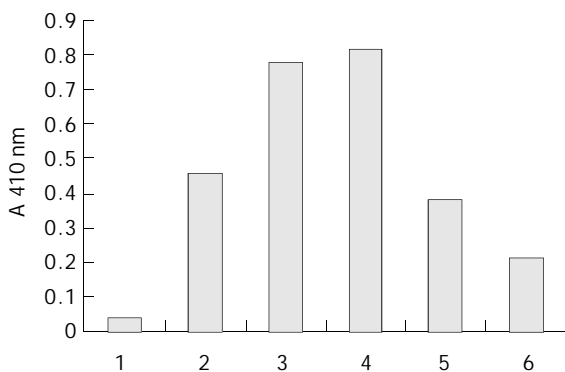


图 1 HCBP6 对 HCV 核心蛋白反式激活作用的影响. 1: pCAT3; 2: pCAT3 + pcDNA3.1(-)-Hcbp6; 3: pCAT3 + pcDNA3.1(-)-core; 4: pCAT3 + pcDNA3.1(-)-core; 5: pCAT3 + pcDNA3.1(-)-core + pcDNA3.1(-)-Hcbp6; 6: pCAT3 + pcDNA3.1(-)-core + pcDNA3.1(-)-Hcbp6.

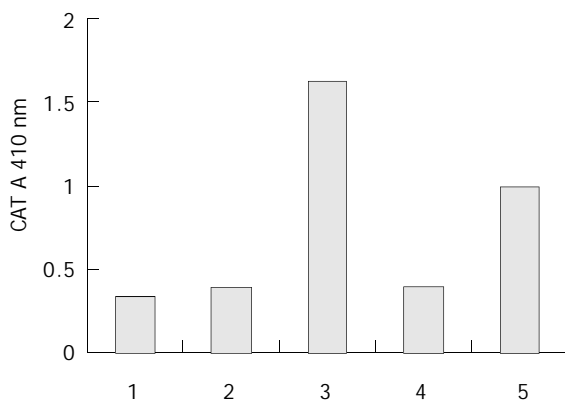


图 2 肝母细胞瘤细胞系 HepG2 的共转染实验. 1: 对照 pCAT3-basic; 2: 空白 pcDNA3.1(-); 3: HCV 核心; 4: HCBP6; 5: HCV 核心+HCBP6.

1.2 方法 HepG2 细胞系在含 100 mL/L 小牛血清的 DMEM 培养液中生长. 细胞生长至 50-80% 融合度时采用脂质体转染法, 具体转染方法参照 FuGENE6 说明书进行, 质粒转染 48 h 后收获细胞进行裂解, 提取上清液, 取 200 μ L 用于检测 CAT 的表达量. 具体方法严格按照 CAT ELISA 试剂盒说明书进行, 在 415 nm 光波下测吸光度 A 值^[16-20].

2 结果

利用重组表达载体的限制性内切酶作图分析和插入片段的核苷酸序列分析, 证实构建的 pcDNA3.1(-)-HCBP6、pcDNA3.1(-)-core 表达载体正确^[7-13]. 由 2 人分别进行共转染实验. 第一批实验中, 发现 HCV 核心蛋白的表达对 SV40 即刻早期启动子的转录活性具有显著的反式激活作用. 当与 HCBP6 蛋白的表达载体进行共转染时, 对于 HCV 核心蛋白的反式激活作用具有显著的抑制作用, 抑制率为 62.3%(图 1). 第 2 批实验中, 结果类似. HCV 核心蛋白反式激活 SV40 即刻早期启动子的转录活性达到 4.7 倍, 当与 HCBP6 蛋白的表达载体进行共转染时, 对于 HCV 核心蛋白的反式激活作用具有显著的抑制作用, 抑制率为 40.4%(表 1, 图 2).

表 1 pCAT3 + pcDNA3.1(-)-core 和 pcDNA3.1(-)-Hcbp6 共转染实验

分组	报告质粒	转染质粒	CAT 酶 A 值	相对倍数
1	pCAT3-promoter	pCAT3-basic	0.345	1.0
2	pCAT3-promoter	pcDNA3.1(-)	0.395	1.0
3	pCAT3-promoter	pcDNA3.1(-)-core	1.629	4.7
4	pCAT3-promoter	pcDNA3.1(-)HCBP6	0.402	1.0
5	pCAT3-promoter	pcDNA3.1(-)-core		
		pcDNA3.1(-)HCBP6	0.988	2.8

3 讨论

肝炎病毒蛋白的表达, 对于肝细胞的基因表达谱具有显著的影响^[21-26]. 有些病毒蛋白具有细胞核内定位信号, 通过不同的磷酸化修饰, 发生细胞质到细胞核的转位, 在细胞核内发挥其反式激活作用, 这种细胞核内的反式激活作用, 或者通过直接与肝细胞基因组 DNA 序列中的启动子结构结合, 发挥转录调节作用; 或者通过与细胞核内的相关的转录因子蛋白之间的结合, 间接影响肝细胞基因组的转录表达^[27-49]. 但是, 肝炎病毒蛋白的亚细胞定位更为主要的是在细胞质中分布, 通过复杂的多环节的信号转导通路, 间接对肝细胞基因组的转录表达发挥反式调节作用. 肝炎病毒蛋白的反式激活经常会有共同的作用对象, 发现一些共同的反式调节靶基因. 2 种技术同时发现的反式调节基因类型包括: MHBst 调节原癌基因 c-myc、HBxAg 蛋白反式调节 S-100 钙结合蛋白 A11、HCV NS3 蛋白反式调节真核翻译延伸因子 2(EEF2)、HCV NS5A 蛋白反式调节新基因序

列NS3TP6等^[36].

利用报告基因的共转染技术, 我们首先证实了HCV核心蛋白的反式激活作用, 同时发现HBV和HCV反式激活作用的蛋白之间还具有显著的协同作用. 我们也曾经利用酵母双杂技术, 对于HCV核心蛋白的肝细胞内的结合蛋白进行筛选, 获得了一个新的未知功能基因, 命名为HCBP6^[1, 50-61]. 除了酵母双杂交的筛选以及回交试验结果证实HCBP6蛋白与HCV核心蛋白之间具有结合作用之外, 我们还利用经典的免疫共沉淀技术证实了这2种蛋白在体外的相互结合^[57]. HCBP6蛋白与绿色荧光蛋白的融合蛋白的表达, 也提示HCBP6蛋白的亚细胞定位在细胞核膜的胞质侧^[3]. 因为HCV核心蛋白具有反式激活作用, 在肝细胞内又能够与HCBP6蛋白结合, 因此, 我们推测HCBP6与HCV核心蛋白的结合, 应对于HCV核心蛋白的反式调节作用具有显著的影响. 本文结果表明存在这样的生物学效应^[62-70]. 目前我们正在研究HCV核心蛋白的反式激活作用, 以及HCBP6蛋白的表达对HCV核心蛋白反式激活作用进行抑制的信号转导途径. 相信通过这些研究, 最终阐明HCV核心蛋白在慢性病毒性肝炎、肝纤维化、HCC发生发展中的作用和机制.

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, 邵得志, 夏小兵, 王刚, 董菁, 李莉, 钟彦伟, 洪源, 陈菊梅. 筛选与克隆丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白6基因. 中华实验和临床病毒学杂志 2002;16: 351-354
- 2 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
- 3 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
- 4 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
- 5 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
- 6 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
- 7 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
- 8 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体 α 亚单位基因的表达. 世界华人消化杂志 2003;11:959-962
- 9 刘妍, 杨倩, 成军, 王建军, 纪冬, 党晓燕, 王春花. 基因表达谱芯片筛选NS5ATP3转染细胞差异表达基因. 世界华人消化杂志 2004; 12:306-310
- 10 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
- 11 成军. 丙型肝炎病毒致病分子的生物学机制. 解放军医学杂志 2003;28:23-27
- 12 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
- 13 刘妍, 成军, 邵得志, 王琳, 钟彦伟, 夏小兵. 丙型肝炎病毒核心蛋白反式激活SV40病毒早期启动子/增强子的研究. 军医进修学院学报 2001;22:186-188
- 14 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
- 15 刘妍, 成军, 王建军, 陆荫英, 杨倩. 应用基因表达谱芯片技术筛选丙型肝炎病毒核心蛋白反式调节基因. 解放军医学杂志 2003; 28:55-57
- 16 刘妍, 成军, 董菁, 夏小兵, 李克, 杨继珍. 截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活作用的初步研究. 肝脏 2001;6:8-10
- 17 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
- 18 刘妍, 董菁, 皇甫竞坤, 成军, 王刚, 王琳, 李莉. 乙型肝炎病毒X基因异质性及其反式激活功能的影响. 解放军医学杂志 2002; 27:125-127
- 19 刘妍, 董菁, 皇甫竞坤, 成军, 韩萍, 牟劲松, 李克, 钟彦伟. 乙型肝炎病毒核心启动子区基因异质性及其转录活性的影响. 解放军医学杂志 2002;27:128-130
- 20 刘妍, 成军, 王刚, 李克, 段惠娟, 王琳, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. HCV核心蛋白与截短型HBV表面抗原中蛋白协同反式激活功能的研究. 中华肝脏病杂志 2002;10:354-357
- 21 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
- 22 成军. 基因芯片技术的原理及其在肝病研究中的应用. 中华肝脏病杂志 2002;10:302
- 23 刘妍, 成军, 张跃新, 段惠娟, 牟劲松, 韩萍, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 截短型HBsAg中蛋白反式激活基因的克隆. 中华传染病杂志 2002;20:218-221
- 24 刘妍, 陆荫英, 成军, 王建军, 李莉, 张玲霞. 丙型肝炎病毒非结构蛋白NS5A反式激活基因的克隆化研究. 解放军医学杂志 2003; 28:40-43
- 25 刘妍, 成军, 牟劲松, 陆荫英, 王建军, 李克, 王琳, 张玲霞. 丙型肝炎病毒非结构蛋白NS3反式激活SV40病毒早期启动子的研究. 解放军医学杂志 2003;28:44-46
- 26 刘妍, 成军, 牟劲松, 陆荫英, 王建军, 杨倩, 王琳, 张玲霞. 丙型肝炎病毒非结构蛋白NS3与乙型肝炎病毒X蛋白协同反式激活作用的研究. 解放军医学杂志 2003;28:47-49
- 27 刘妍, 成军, 陆荫英, 王刚, 牟劲松, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 乙型肝炎病毒X蛋白反式调节基因的克隆化研究. 中华肝脏病杂志 2003;11:5-7
- 28 刘妍, 成军, 邵得志, 王琳, 钟彦伟, 董菁, 李克, 李莉. HCV核心蛋白与HBV X蛋白协同反式激活作用的研究. 中华实验和临床病毒学杂志 2003;17:39-41
- 29 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
- 30 纪冬, 成军, 王建军, 刘妍, 杨倩, 王春花, 党晓燕. 丙型肝炎病毒非结构蛋白NS3反式激活基因1的克隆化研究. 胃肠病学和肝病杂志 2003;12:237-240
- 31 党晓燕, 成军, 刘妍, 邓红, 杨倩, 王建军, 纪冬, 王春花. 丙型肝炎病毒非结构蛋白5A反式激活基因NS5ATP13的克隆化研究. 胃肠病学和肝病杂志 2003;12:260-262
- 32 党晓燕, 成军, 刘妍, 邓红, 杨倩, 王建军, 纪冬, 王春花. 丙型肝炎病毒非结构蛋白NS3反式激活基因2的克隆化研究. 胃肠病学和肝病杂志 2003;12:241-244
- 33 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
- 34 李强, 梁耀东, 成军, 王琳, 程明亮. 丙型肝炎病毒非结构蛋白NS5A反式激活基因NS5ATP9的克隆化研究. 胃肠病学和肝病杂志 2003;12:254-256
- 35 王春花, 成军, 郎振为, 刘妍, 王建军, 杨倩, 纪冬, 党晓燕. 乙型肝炎病毒X蛋白反式激活基因XTP3的克隆化研究. 胃肠病学和肝病杂志 2003;12:229-232
- 36 邵清, 成军, 白雪帆, 王琳, 张健, 梁耀东, 刘敏, 李强. 丙型肝炎病毒非结构蛋白NS3反式激活基因6的克隆化研究. 胃肠病学和肝病杂志 2003;12:245-247
- 37 杨倩, 刘妍, 成军, 王建军, 王春花, 纪冬, 党晓燕, 张树林. 丙型肝炎病毒非结构蛋白5A反式激活基因4的克隆化研究. 胃肠病学和肝病杂志 2003;12:258-250

- 38 王建军, 杨倩, 成军, 刘妍, 纪冬, 党晓燕, 王春花. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS5A 反式激活基因 NS5ATP6 的克隆化研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2003;12:251-253
- 39 刘妍, 段惠娟, 成军, 王建军, 陆荫英, 牟劲松, 王琳, 张玲霞. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS5A 反式激活 SV40 病毒启动子的研究. 军医进修学院学报 2003;24:81-83
- 40 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
- 41 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
- 42 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
- 43 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
- 44 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;11:888-896
- 45 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
- 46 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
- 47 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
- 48 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
- 49 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连蛋白 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
- 50 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
- 51 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
- 52 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
- 53 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
- 54 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
- 55 陆荫英, 李克, 王琳, 刘妍, 王业东, 成军, 张玲霞. 乙型肝炎病毒前 - S2 蛋白结合蛋白的筛选. 中华肝脏病杂志 2003;11:8-10
- 56 陆荫英, 王琳, 刘妍, 李克, 成军, 张玲霞, 李莉. 乙型肝炎病毒核心抗原与金属硫蛋白相互作用的研究. 解放军医学杂志 2003;28:161-163
- 57 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
- 58 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
- 59 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
- 60 王琳, 李克, 成军, 张健, 梁耀东, 刘妍. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 5A 反式激活基因 11 的克隆化研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2003;12:257-259
- 61 成军, 刘妍, 杨倩, 王建军, 洪源, 王琳. 乙型肝炎病毒对于 S100A11 信号转导的影响. 胃肠病学和肝病学杂志 2003;12:193-196
- 62 陆荫英, 王琳, 刘妍, 李克, 成军, 张玲霞, 李莉. 乙型肝炎病毒 e 抗原真核表达载体构建及在酵母中的表达. 临床肝胆病杂志 2003;19:166-168
- 63 Shirakata Y, Koike K. Hepatitis B virus x protein induces cell death by causing loss of mitochondrial membrane potential. *J Biol Chem* 2003;278:22071-22078
- 64 Goto T, Kato N, Yoshida H, Otsuka M, Moriyama M, Shiratori Y, Koike K, Matsumura M, Omata M. Synergistic activation of the serum response element-dependent pathway by hepatitis B virus x protein and large-isoform hepatitis delta antigen. *J Infect Dis* 2003;187:820-828
- 65 Bode JG, Ludwig S, Ehrhardt C, Albrecht U, Erhardt A, Schaper F, Heinrich PC, Haussinger D. IFN- α antagonistic activity of HCV core protein involves induction of suppressor of cytokine signaling-3. *FASEB J* 2003;17:488-490
- 66 Ning Q, Berger L, Luo X, Yan W, Gong F, Dennis J, Levy G. STAT1 and STAT3 α/β splice form activation predicts host responses in mouse hepatitis virus type 3 infection. *J Med Virol* 2003;69:306-312
- 67 Lin WJ, Li J, Lee YF, Yeh SD, Altuwaijri S, Ou JH, Chang C. Suppression of hepatitis B virus core promoter by the nuclear orphan receptor TR4. *J Biol Chem* 2003;278:9353-9360
- 68 Lara-Pezzi E, Gomez-Gavero MV, Galvez BG, Mira E, Iniguez MA, Fresno M, Martinez-A C, Arroyo AG, Lopez-Cabrera M. The hepatitis B virus X protein promotes tumor cell invasion by inducing membrane-type matrix metalloproteinase-1 and cyclooxygenase-2 expression. *J Clin Invest* 2002;110:1831-1838
- 69 Mundt B, Kuhnel F, Zender L, Paul Y, Tillmann H, Trautwein C, Manns MP, Kubicka S. Involvement of TRAIL and its receptors in viral hepatitis. *FASEB J* 2003;17:94-96
- 70 Petrusis JR, Kusnadi A, Ramadoss P, Hollingshead B, Perdew GH. The hsp90 Co-chaperone XAP2 alters importin beta recognition of the bipartite nuclear localization signal of the Ah receptor and represses transcriptional activity. *J Biol Chem* 2003;278:2677-2685