

# 幽门螺杆菌vacA毒性片段与hpaA融合基因的原核表达

刘 森, 杨致邦, 林珊珊, 吴利先

刘森, 杨致邦, 林珊珊, 吴利先, 重庆医科大学基础医学院微生物学教研室 重庆市 400016  
刘森, 男, 1976-11 生, 安徽人, 汉族, 硕士生, 主要从事机会致病菌感染研究。  
项目负责人: 杨致邦, 400016, 重庆市, 重庆医科大学基础医学院微生物学教研室。 dryangfm365@sina.com  
电话: 023-68485090 传真: 023-68486859  
收稿日期: 2003-10-27 接受日期: 2003-12-22

## Prokaryotic expression of fusion gene of vacuolating segment of vacA and hpaA in *Helicobacter pylori*

Miao Liu, Zhi-Bang Yang, Shan-Shan Lin, Li-Xian Wu

Miao Liu, Zhi-Bang Yang, Shan-Shan Lin, Li-Xian Wu, Department of Microbiology, College of Basic Medicine, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China  
Correspondence to: Dr Zhi-Bang Yang, Department of Microbiology, College of Basic Medicine, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China. dryangfm365@sina.com  
Received: 2003-10-27 Accepted: 2003-12-22

## Abstract

AIM: The prokaryotic expression vector of the fusion gene with v segment of the vacuolating cytotoxin and hpaA of *Helicobacter pylori* (*H pylori*) was constructed and expressed. It would lay a foundation for prophylaxis and therapy of *H pylori* infection.

METHODS: By using the primer with a fragment encoding 12 amino acids of N-terminal of human interleukin-3 (IL-3), the vacuolating cytotoxin gene of *Hp* with linker was amplified from pQE30-V plasmid by PCR. The gene was cloned into plasmid pTrc99A-HpaA and fused with the hpaA gene. The fusion gene was cloned into prokaryotic expression vector pQE30. The recombinant plasmid of pQE30-V-HpaA was transformed into *E.coli*. DH5 $\alpha$  and expressed in the presence of IPTG. The expression product was analyzed by SDS-PAGE, its antigenicity of the expression product was identified by Western blotting.

RESULTS: Mr of recombinant protein was about 65 000 and represented 35% total protein of *E.coli*. Western blotting showed the recombinant protein could be recognized by the antiserum against *H pylori*.

CONCLUSION: The fusion gene and its prokaryotic expression vector pQE30-V-HpaA is constructed and expressed in DH5 $\alpha$  successfully. It provides the antigen basis for further studying the biological function of fusion protein and obtaining vaccine against the infection of *H pylori*.

Liu M, Yang ZB, Lin SS, Wu LX. Prokaryotic expression of fusion gene of vacuolating segment of vacA and hpaA in *Helicobacter pylori*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(5):1096-1099

## 摘要

目的: 构建幽门螺杆菌 vacA 毒性片段(v)与 hpaA 融合基因的原核表达载体, 并诱导表达, 为制备具有治疗与预防作用的疫苗奠定基础。

方法: 通过设计带有编码 IL-3N 端 12 个氨基酸引物, 用 PCR 技术从 pQE30-V 质粒扩增出有接头的 v 基因, 克隆至质粒 pTrc99A-HpaA 中与 hpaA 融合。将融合基因插入原核表达载体 pQE30, 再将 pQE30-V-HpaA 转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$ , 经 IPTG 诱导表达, SDS-PAGE 分析表达结果, Western blotting 鉴定其抗原性。

结果: 融合蛋白的相对分子量约为 65 000, 能与幽门螺杆菌感染的人阳性血清发生抗原抗体反应。

结论: 重组表达质粒 pQE30-V-HpaA 表达成功, 为进一步研究其免疫学活性及制备疫苗提供了材料。

刘森, 杨致邦, 林珊珊, 吴利先. 幽门螺杆菌 vacA 毒性片段与 hpaA 融合基因的原核表达. 世界华人消化杂志 2004;12(5):1096-1099  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1096.asp>

## 0 引言

胃部疾病的发生、复发和幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H pylori*)感染有关<sup>[1-19]</sup>。由于 *H pylori* 的感染途径尚未完全明了, 目前尚无阻止感染的有效措施。*H pylori* 在胃内定植的关键环节是黏附, 由黏附素受体系统介导, 依赖于黏附分子上某些特定的氨基酸位点与胃黏膜细胞上的受体特异性结合。鞭毛 N-乙酰神经胺乳糖结合凝集素是 *H pylori* 的主要定植因子。编码该因子的基因序列已基本明了, 其中黏附素(*Helicobacter pylori* adhesin A, HpaA)基因为 *H pylori* 特有, 长 783 bp, 较保守, 编码 *H pylori* 与胃黏膜细胞结合的亚单位蛋白,  $M_r$  29 000。并有良好的免疫原性<sup>[20-23]</sup>。VacA 是 *H pylori* 引起细胞损伤的重要致病物质, 与消化性溃疡及胃癌的细胞病变有关, VacA 也具有好的免疫原性<sup>[24-32]</sup>。VacA 与 HpaA 均能刺激机体产生保护性免疫, 为此, 我们构建 vacA 与 hpaA 融合基因的原核表达载体。为维持两种抗原各自的空间构象, 融合基因中被加上编码 IL-3N 端 12 个氨基酸中间接头序列, 并在 *E.coli* 中表达, 以期获得 V-HpaA 融合蛋白, 为制备既能阻止 *H pylori* 黏附又能中和 VacA 毒性的集治疗和预防为一体的疫苗提供有效抗原。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** E.coli Top10, DH5 $\alpha$  菌株和 pQE30 载体, 为本校病毒性肝炎研究所惠赠, pTrc99A-HpaA 质粒(含 H pylori 黏附蛋白 DNA 序列), pQE30-V 质粒(含 H pylori 细胞空泡毒素毒性 DNA 序列)为本室构建、保存. T<sub>4</sub> DNA 连接酶和 SalI, BamHI, Nco I, EcoR I 购自宝生物公司, Pfu 酶为 MBI 公司产品. dNTP 为上海生工生物工程公司产品. DNA marker 为 MBI 公司售品, 蛋白质 marker 为医科院售品, 质粒提取试剂盒、胶回收试剂盒等为上海华舜公司售品, PCR 纯化试剂盒为 Omega 公司售品.

### 1.2 方法

**1.2.1 H pylori v 基因的 PCR 扩增** 用引物设计软件 premier 5.0 设计 v 基因引物, 由上海博亚生物公司合成. 配制为 20  $\mu$ M 贮存液. 引物序列是: 上游引物引入 Nco I 切点, 即 5' -CGACCATGGATGCATTATTGGGTCAGG-3'. 下游引物去掉终止密码子, 引入 IL-3 5' 端 36nt 及 EcoR I 酶切位点. 即: 5' -ATGAATTCCAGGAGCAGGACGGGCAGGCGGCTCATGTTTGGATCGTTACTATCTTGT-3'. 以 pQE30-V 质粒为模版, 反应体系共 50  $\mu$ L, 条件为: 94  $^{\circ}$ C 5 min, 94  $^{\circ}$ C 50 s, 57  $^{\circ}$ C 45 s, 72  $^{\circ}$ C 60 s, 72  $^{\circ}$ C 7 min, 共 35 个循环. 取 4  $\mu$ L PCR 产物 10 g/L 琼脂糖电泳, 在紫外灯下切下约为 750 bp 大小含 DNA 的胶块, 回收产物.

**1.2.2 重组载体 pTrc99A-HpaA-V 的构建** 纯化的 PCR 产物 v 基因和 pTrc99A-HpaA 质粒分别以 Nco I 和 EcoR I 双酶切, 并用 PCR 纯化试剂盒进行纯化, 将酶切纯化的目的基因和载体 pTrc99A-HpaA 按 6:1(浓度比)进行连接. 反应体系 20  $\mu$ L, 16  $^{\circ}$ C 连接 2 h. 连接产物用 CaCl<sub>2</sub> 法转化至大肠杆菌 Top10, 氨苄青霉素抗性及质粒少量抽提电泳筛选, 酶切鉴定, 得到阳性重组子 pTrc99A-HpaA-V.

**1.2.3 融合基因 v-hpaA PCR 扩增** 以 pTrc99A-HpaA-V 为模版扩增融合基因 v-hpaA. 引物序列是: 上游引物引入 BamHI 酶切位点, 即 5' CCGGATCCATGCATTATTGGGTCAAAGG-3'. 下游引物引入 SalI 酶切位点, 即 5' CGGTGCACTTCTTATGCGTTATTTGT-3'. 反应体系共 50  $\mu$ L, 条件为: 94  $^{\circ}$ C 5 min, 94  $^{\circ}$ C 50 s, 53  $^{\circ}$ C 50 s, 72  $^{\circ}$ C 90 s, 72  $^{\circ}$ C 7 min, 共 35 个循环. 取 PCR 产物 4  $\mu$ L 进行 10 g/L 琼脂糖电泳, 在紫外灯下切下约为 1 550 bp 大小含 DNA 的胶块. 回收产物.

**1.2.4 重组载体 pQE30-V-HpaA 构建** 纯化的 V-HpaA PCR 产物和 pQE30 分别以 BamHI 和 SalI 双酶切, 并用 PCR 纯化试剂盒进行纯化, 酶切纯化的目的基因和载体 pQE30 按 6:1(浓度比)进行连接. 反应体系 20  $\mu$ L, 16  $^{\circ}$ C 2 h. 连接产物用 CaCl<sub>2</sub> 法转化至大肠杆菌 DH5 $\alpha$  表达, 氨苄青霉素抗性及质粒少量抽提电泳筛选, 酶切鉴定, 得到阳性重组子. 将鉴定后的重组质粒送上海博亚生物有限公司进行测序. 以酶切鉴定的重组载体转化

E.coli DH5 $\alpha$ , 随后挑选含重组载体的单个菌落接种于盛有 LB 培养基的 6 支试管(含氨苄青霉素 100 mg/L)中, 与 DH5 $\alpha$ /pQE-30 菌一起. 于 37  $^{\circ}$ C 培养至 A<sub>600</sub>=0.4-0.6 时, 加入终浓度分别为 0.5 mmol/L 的 IPTG, 诱导表达 4 h, 以 10 000 r/min 离心 2 min. 收集菌体, 加入蛋白上样缓冲液煮沸 5 min, 然后 120 g/L SDS-PAGE 电泳鉴定.

**1.2.5 Western blotting 检测重组蛋白的抗原性** 将诱导菌的全菌做 120 g/L SDS-PAGE. 使凝胶靠近阴性一侧, NC 膜靠近阳性一侧, 在 150V 条件下转移 2 h, 电转移后, 取出 NC 膜, 用 PBS 洗涤 4 次, 每次 5 min, 加封闭液, 室温封闭非特异性位点, 洗膜同前述. 然后, 依次加上 H pylori 全菌抗血清, 37  $^{\circ}$ C 作用 2 h, 同法洗膜. 再加 HRP 标记的羊抗人二抗, 37  $^{\circ}$ C 作用 2 h, 洗膜. 最后, 将 NC 膜浸泡于 DAB 显色剂中 10-15 min, 再用双蒸水冲洗, 以终止染色.

## 2 结果

**2.1 重组质粒 pTrc99A-V-HpaA 的构建** v 基因的 PCR 产物经 10 g/L 琼脂糖电泳, 在 750bp 有一条带, 大小与预想一致(图 1). 重组质粒 pTrc99A-V-HpaA 与 pTrc99A-HpaA 用 Nco I 和 EcoR I 双酶切后, 经 10 g/L 琼脂糖电泳, 可见 pTrc99A-V-HpaA 被切下 750 bp 左右的一条带, 大小与预想一致(图 2).

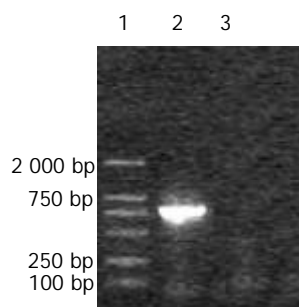


图 1 带有接头的 v 基因片段的 PCR 扩增. 1: DNA marker; 2: PCR product; 3: control.

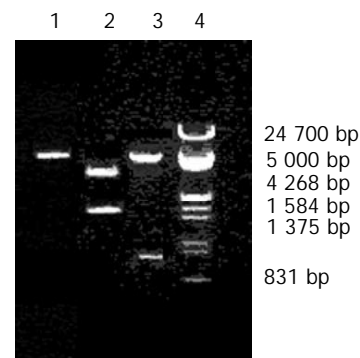


图 2 重组质粒 pTrc99A-V-HpaA 限制性酶切分析. 1: pTrc99A-HpaA/NcoI+EcoRI; 2: pTrc99A-V-HpaA/NcoI+BamHI; 3: pTrc99A-V-HpaA/NcoI+EcoRI; 4: DNA marker.

**2.2 重组质粒 pQE30-V-HpaA 鉴定** v-hpaA 的 PCR 产

物经 10 g/L 琼脂糖电泳, 在 1 548 bp 有一条带, 大小与预想一致(图 3). 重组质粒 pQE30-V-HpaA 与 pQE30 用 BamHI 和 SalI 双酶切后, 经 10 g/L 琼脂糖电泳, 可见 pQE30-V-HpaA 被切下 1 548 bp 的一条带, 大小与预想一致(图 4).

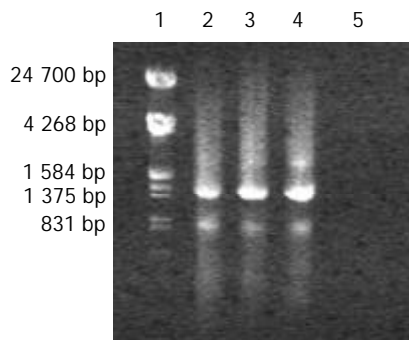


图3 融合基因v-hpaA 的PCR扩增. 1: DNA marker; 2-4: PCR product; 5: control.

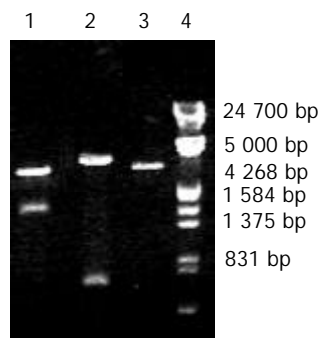


图4 重组质粒 pQE-30-hpa-vacA 限制性酶切分析. 1: pQE30-V-HpaA / BamHI + SalI; 2: pQE30-V-HpaA / EcoRI + BamHI; 3: pQE30 / BamHI + SalI; 4: DNA marker.

**2.3 重组质粒 pQE30-V-HpaA 的序列** 利用通用引物对重组质粒进行测序分析, 所得 hpaA, v 和接头序列均完整, 在同一 ORF 内, 无突变, 与预期一致.

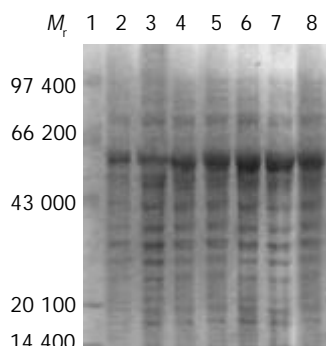


图5 DH5α/pQE30-V-HpaA 表达产物 SDS-PAGE 鉴定结果. 1: protein marker; 2: DH5α/pQE30 induced with IPTG; 3: DH5α/pQE30-V-HpaA induced without IPTG; 4-8: DH5α/pQE30-V-HpaA induced with IPTG.

**2.4 目的蛋白的表达和活性** 将鉴定正确的重组质粒 pQE30-V-HpaA 转化至大肠杆菌 DH5α, 经 IPTG 诱导表达, IPTG 的浓度为 0.5 mmol/L, 诱导 4 h, 全菌蛋白

SDS-PAGE 图谱如图 5, 薄层扫描分析表明, 目的蛋白表达量为 35% 以上(图 5). 将以 12% SDS-PAGE 分离的重组菌电转移到 NC 膜上, 依次加上 H pylori 全菌抗血清和 HRP 标记的羊抗人二抗, 显色后出现一条和预期大小一致的带(图 6).

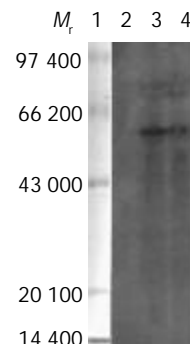


图6 融合蛋白的 Western blotting 鉴定结果. 1: Protein marker; 2: Noninduced protein exhibited with anti-serum against H pylori Ab-HRP; 3-4: induced protein exhibited with anti-serum against H pylori Ab-HRP.

### 3 讨论

如果一种蛋白能够包括 H pylori 的两种或多种有效抗原成分, 其刺激机体将会产生多重免疫保护性反应, 有利于防治 H pylori 的感染<sup>[33-35]</sup>. 为了实现这个目的, 我们构建了融合基因, 进而表达融合蛋白. 朱森林 et al 利用减毒鼠伤寒沙门菌能表达异种抗原, 在哺乳动物中经口、鼻、直肠和阴道黏膜途径免疫能诱导强大而特异的免疫反应的, 将载有 hpaA 基因的重组表达质粒导入减毒鼠伤寒沙门菌 SL3216, 构建成表达 HpaA 重组减毒鼠伤寒沙门疫苗菌, 发现 HpaA 能在疫苗中以二聚体形式稳定表达, 表达量为全菌体蛋白的 17%, 并证实具有免疫原性<sup>[36-39]</sup>. 研究表明, vacA 基因和 HpaA 基因的原核表达产物均有免疫原性, 并在治疗和预防 H pylori 感染中起到良好作用. 我们将 vacA 的毒性片段 v 和 HpaA 基因连接, 表达融合蛋白, 若不影响免疫原性, 制备抗 VacA 和 HpaA 抗体, 将既能中和已感染的 H pylori 产生的 VacA, 使其不引起细胞病变, 又能阻止 H pylori 在胃内定植, 防止 H pylori 的再感染, 起到预防和治疗作用. 此类融合蛋白和疫苗, 尚未见报道.

由于融合蛋白作为一个整体, 其一级结构已经改变, 而一级结构是决定蛋白质空间构象的基础. 因此融合蛋白就有可能具有与单独的蛋白不同的空间构象, 从而影响各组分蛋白各自功能的发挥. 一般认为以接头连接可以比直接连接融合蛋白减少上述影响. 我们构建 HpaA-V 融合蛋白的原核表达载体, 中间加上 IL-3N 端的接头 12 个氨基酸, 期望 HpaA 与 V 互不干扰而形成各自的天然构象, 从而同时获得具有两种抗原特性的重组蛋白, 达到预期的效果.

我们表达的融合蛋白必须具有单独 HpaA 与 VacA 免疫原性, 才能使机体产生针对 HpaA 与 VacA 的免疫,

成为制备疫苗的有效抗原. Western blotting 分析表明, 表达的蛋白能与 *H. pylori* 阳性血清反应, 有良好的抗原性, 但是否同时具有 HpaA 与 VacA 二者的免疫原性尚需进一步鉴定.

#### 4 参考文献

- Vandenplas Y. *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2000;6:20-31
- 杨艺, 邓长生, 姚学军, 刘汉燕, 陈默. 幽门螺杆菌对胃上皮细胞形态与生长的影响. *世界华人消化杂志* 2000;8:500-504
- 庆小强, 林三仁. 胃癌及癌前病变中幽门螺杆菌分布的感染研究. *世界华人消化杂志* 2000;8:710-711
- 刘海峰, 刘为纹, 房殿春, 杨仕明, 赵丽. 幽门螺杆菌诱导胃黏膜上皮细胞凋亡与 Bax 蛋白的表达. *世界华人消化杂志* 2000;8:860-862
- 张万岱, 徐智民. 幽门螺杆菌研究现状及共识. *世界华人消化杂志* 2000;8:1084-1088
- 陈世耀, 王吉耀, 纪元, 张希德, 朱畴文. 幽门螺杆菌与蛋白激酶 C 在胃癌及癌前病变基因突变中的作用. *世界华人消化杂志* 2001;9:302-307
- 徐灿, 金震东, 李兆申. 幽门螺杆菌与胃食管反流病. *世界华人消化杂志* 2001;9:679-68
- 王东旭, 房殿春, 李为, 杜群先, 刘为纹. 幽门螺杆菌感染与抑癌基因失活的关系. *世界华人消化杂志* 2001;9:984-987
- 姚永莉, 张万岱. 幽门螺杆菌与胃癌的关系. *世界华人消化杂志* 2001;9:1045-1049
- Xue FB, Xu YY, Wan Y, Pan BR, Ren J, Fan DM. Association of *H. pylori* infection with gastric carcinoma: a Meta analysis. *World J Gastroenterol* 2001;7:801-804
- 宋春芳, 袁媛. 细胞凋亡与胃癌及幽门螺杆菌相关胃疾病. *世界华人消化杂志* 2002;10:427-429
- 于君, 沈祖尧. 幽门螺杆菌感染所致胃黏膜分子生物学行为改变在胃癌发生中的作用. *世界华人消化杂志* 2002;10:499-502
- 姜政, 黄爱龙, 陶小红, 王丕龙. 幽门螺杆菌感染与胃肠外疾病关系的研究. *世界华人消化杂志* 2002;10:706-709
- 刘海峰, 刘为纹, 房殿春, 王国安, 滕小春. 幽门螺杆菌感染与胃癌前病变演化的关系. *世界华人消化杂志* 2002;10:912-915
- Wang RT, Wang T, Chen K, Wang JY, Zhang JP, Lin SR, Zhu YM, Zhang WM, Cao YX, Zhu CW, Yu H, Cong YJ, Zheng S, Wu BQ. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer: evidence from a retrospective cohort study and nested case-control study in China. *World J Gastroenterol* 2002;8:1103-1107
- Hu GY, Yu BP, Dong WG, Li MQ, Yu JP, Luo HS, Rang ZX. Expression of TFF2 and *Helicobacter pylori* infection in carcinogenesis of gastric mucosa. *World J Gastroenterol* 2003;9:910-914
- 徐智民, 张万岱, 周殿元. 幽门螺杆菌的研究进展. *世界华人消化杂志* 2003;11:635-639
- Mitani K, Tatsuta M, Iishi H, Yano H, Uedo N, Iseki K, Narahara H. *Helicobacter pylori* infection as a risk factor for gastric ulceration. *Hepatogastroenterology* 2004;51:309-312
- 崔梅花, 胡伏莲. 幽门螺杆菌的致病因子. *世界华人消化杂志* 2003;11:1993-1996
- Mao YF, Yan J, Li LW, Li SP. Construction of hpaA gene from a clinical isolate of *Helicobacter pylori* and identification of fusion protein. *World J Gastroenterol* 2003;9:1529-1536
- 毛亚飞, 严杰, 李立伟. 幽门螺杆菌临床菌株 HpaA 基因的克隆和表达及鉴定. *浙江大学学报(医学版)* 2003;32:9-12
- Voland P, Hafs N, Zeitner M, Laforsch S, Wagner H, Prinz C. Antigenic properties of HpaA and Omp18, two outer membrane proteins of *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 2003;71:3837-3843
- Lundstrom AM, Bolin I, Bystrom M, Nystrom S. Recombinant HpaA purified from *Escherichia coli* has biological properties similar to those of native *Helicobacter pylori* HpaA. *APMIS* 2003;111:389-397
- 王虹, 高建萍, 金秀芬, 何伟, 周磊, 赵子仪, 李泽民. 胃十二指肠疾病对 Hp cagA, vacA 基因产物的体液免疫应答. *世界华人消化杂志* 2001;9:504-507
- 叶桂安, 张万岱, 刘利民, 施理, 徐智民, 陈烨, 周殿元. 幽门螺杆菌 vacA 基因多态性与慢性胃病. *世界华人消化杂志* 2001;9:593-595
- 徐克强, 张万岱, 王继德, 李子旭, 周殿元, 张亚历, 黄文峰, 姜泊, 孙勇. 幽门螺杆菌细胞毒素促进胃黏膜分泌白介素 8 作用. *世界华人消化杂志* 2002;10:907-911
- 刘纯杰, 张兆山, 陶好霞, 李淑琴, 李勤, 刘秀丽, 段海清, 黄翠芳. 幽门螺杆菌 vacA 基因的克隆和序列分析. *生物技术通讯* 2002;13:126-127
- Muller I, Medina-Selby A, Palacios JL, Martinez P, Opazo P, Bruce E, Mancilla M, Valenzuela P, Yudelevich A, Venegas A. Cloning and comparison of ten gene sequences of a Chilean *H. pylori* strain with other *H. pylori* strains revealed higher variability for VacA and CagA virulence factors. *Biol Res* 2002;35:67-84
- Pessina A, Bayo M, Croera C, Meringolo F, Neri MG, Montesissa L, Raimondi A. In vitro sensitivity of human gastric cancer cells (HGC-27) to *Helicobacter pylori* cytotoxin. *Scand J Gastroenterol* 2003;38:1228-1234
- Tabel G, Hoa NT, Tarnawski A, Chen J, Domek M, Ma TY. *Helicobacter pylori* infection inhibits healing of the wounded duodenal epithelium in vitro. *J Lab Clin Med* 2003;142:421-430
- Willhite DC, Blanke SR. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin enters cells, localizes to the mitochondria, and induces mitochondrial membrane permeability changes correlated to toxin channel activity. *Cell Microbiol* 2004;6:143-154
- Boncristiano M, Paccani SR, Barone S, Olivieri C, Patrussi L, Ilver D, Amedei A, D'Elis MM, Telford JL, Baldari CT. The *Helicobacter pylori* vacuolating toxin inhibits T cell activation by two independent mechanisms. *J Exp Med* 2003;198:1887-1897
- 郭刚, 邹全明. 幽门螺杆菌的基因组及蛋白质组学研究进展. *世界华人消化杂志* 2003;11:2022-2026
- Jiang Z, Tao XH, Huang AL, Wang PL. A study of recombinant protective *H. pylori* antigens. *World J Gastroenterol* 2002;8:308-311
- Lehours P, Menard A, Dupouy S, Bergey B, Richy F, Zerbib F, Ruskone-Fourmestreaux A, Delchier JC, Megraud F. Evaluation of the association of nine *Helicobacter pylori* virulence factors with strains involved in low-grade gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Infect Immun* 2004;72:880-888
- 朱森林, 陈昱洁, 廖文俊, 陈洁, 胡品津. 表达幽门螺杆菌 hpaA 重组减毒鼠伤寒沙门氏菌的构建和鉴定. *中国免疫学杂志* 2001;17:148-151
- 朱森林, 陈昱湖, 陈洁, 李国庆, 胡品津. 表达幽门螺杆菌 hpaA 基因的减毒鼠伤寒沙门氏菌对小鼠的免疫保护作用. *中国人兽共患病杂志* 2002;18:32-36
- 朱森林, 陈昱湖, 陈洁, 胡品津, 李国庆. 减毒鼠伤寒沙门氏菌全长 hpaA 基因工程菌的构建. *微生物学报* 2002;42:27-32
- 朱森林, 陈昱湖, 陈洁, 胡品津, 李国庆, 陈为, 彭晓忠. 优化构建 UreB/HpaA 双价幽门螺杆菌减毒活疫苗的免疫保护作用. *胃肠病学* 2002;7:11-12