

- protein of pancreatic zymogen granules, and association with lipid microdomains. *Biochem J* 2002;362:433-442
- 27 Hodel A, An SJ, Hansen NJ, Lawrence J, Wasle B, Schrader M, Edwardson JM. Cholesterol-dependent interaction of syncollin with the membrane of the pancreatic zymogen granule. *Biochem J* 2001;356:843-850
- 28 Schmidt K, Schrader M, Kern HF, Kleene R. Regulated apical secretion of zymogens in rat pancreas: Involvement of the GPI-anchored glycoprotein GP-2, the lectin ZG16p and cholesterol-glycosphingolipid enriched microdomains. *J Biol Chem* 2001;276:14315-14323
- 29 Braun M, Thevenod F. Photoaffinity labeling and purification of ZG-16p, a high-affinity dihydropyridine binding protein of rat pancreatic zymogen granule membranes that regulates a K(+)-selective conductance. *Mol Pharmacol* 2000;57:308-316
- 30 Arao M, Murase K, Kusakabe A, Yoshioka K, Fukuzawa Y, Ishikawa T, Tagaya T, Yamanouchi K, Ichimiya H, Sameshima Y, Kakumu S. Prevalence of diabetes mellitus in Japanese patients infected chronically with hepatitis C virus. *J Gastroenterol* 2003; 38:355-360
- 31 邵清, 成军, 白雪帆. 丙型肝炎病毒与2型糖尿病关系的研究. 世界华人消化杂志 2004;12:143-145
- 32 Hale LP, Price DT, Sanchez LM, Demark-Wahnefried W, Madden JF. Zinc alpha-2-glycoprotein is expressed by malignant prostatic epithelium and may serve as a potential serum marker for prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2001;7:846-853
- 33 Stawowy P, Kallisch H, Veinot JP, Kilimnik A, Prichett W, Goetze S, Seidah NG, Chretien M, Fleck E, Graf K. Endoproteolytic activation of alpha(v) integrin by proprotein convertase PC5 is required for vascular smooth muscle cell adhesion to vitronectin and integrin-dependent signaling. *Circulation* 2004;109:770-776
- 34 Faucheux N, Schweiss R, Lutzow K, Werner C, Groth T. Self-assembled monolayers with different terminating groups as model substrates for cell adhesion studies. *Biomaterials* 2004; 25:2721-2730
- 35 Sim RB, Tsiftoglou SA. Proteases of the complement system. *Biochem Soc Trans* 2004; 32:21-27
- 36 Toomayan GA, Chen LE, Jiang HX, Qi WN, Seaber AV, Frank MM, Urbaniak JR. C1-esterase inhibitor and a novel peptide inhibitor improve contractile function in reperfused skeletal muscle. *Microsurgery* 2003;23:561-567
- 37 陆荫英, 刘妍, 成军, 梁耀东, 陈天艳, 邵清, 王琳, 张玲霞. 乙型肝炎病毒 e 抗原肝细胞结合蛋白新基因 E-36 基因表达谱芯片分析. 世界华人消化杂志 2004;12:66-69

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 •

## HBV 核心蛋白结合蛋白 1 编码基因 C1 的克隆化

蔺淑梅, 成军, 陈天艳, 王琳, 刘敏, 张树林

蔺淑梅, 成军, 陈天艳, 王琳, 刘敏, 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, 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: 010-66933391 传真: 010-63801283

收稿日期: 2004-03-15 接受日期: 2004-05-11

个氨基酸残基(aa)组成. 经核苷酸序列数据库 (GenBank)和蛋白质一级结构序列数据库(SwissProt)同源序列的搜寻, 与已知基因序列和蛋白序列之间没有显著同源性, 表明我们克隆的C1基因属于未知功能新基因.

结论: 成功克隆了HBV核心蛋白结合蛋白新基因C1.

蔺淑梅, 成军, 陈天艳, 王琳, 刘敏, 张树林. HBV 核心蛋白结合蛋白 1 编码基因 C1 的克隆化. 世界华人消化杂志 2004;12(7):1704-1707

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1704.asp>

### 摘要

目的: 对乙型肝炎病毒(HBV)核心蛋白结合蛋白1的基因C1进行克隆化研究.

方法: 对应用酵母双杂交技术筛选的白细胞中与HBV核心蛋白结合的新蛋白基因, 利用分子生物学与生物信息学技术相结合的方法获得新基因的编码序列, 根据GenBank中的序列信息设计引物, 以HepG2细胞系cDNA文库为模板, 以逆转录多聚酶链反应(RT-PCR)技术扩增获得该新基因的全长编码序列, 并经测序证实, 命名该新基因为C1, 在GenBank中注册, 注册号为AY555145.

结果: C1基因编码区为366个核苷酸(nt), 编码产物由121

### 0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)是严重危害我国人民身体健康的致病因子<sup>[1-10]</sup>. HBV基因组全长在3 200个核苷酸(nt)左右, 为部分双链DNA病毒. HBV基因组划分出4个开放读码框架, 分别命名为S、C、P、X区. HBV核心抗原(HBcAg)由乙型肝炎病毒C基因的C区编码, 由183个氨基酸残基(aa)组成, 分子量为21-22 kD. HBcAg是组成核壳的主要成分, 在HBV的生活周期中, 病毒核心抗原、病毒mRNA和DNA聚合酶共同构成核心颗粒, 在核心颗粒中完成病毒DNA的合成. HBcAg具有保护病毒mRNA, 防止其被RNA酶降解的作用, 对于乙肝病毒前基因组RNA的装配、基因组DNA的合成具有重要作用, 还与病毒成熟、识别包膜蛋白以及病毒向细胞

外释放等过程密切相关<sup>[11-13]</sup>。在介导免疫应答方面, HBcAg特异性CD4<sup>+</sup> T细胞免疫应答是清除HBV的重要反应<sup>[14-15]</sup>;另外, B细胞刺突尖部有HBcAg的抗原决定簇,可产生相应的体液免疫反应<sup>[13]</sup>。我们利用酵母双杂交技术对白细胞cDNA文库中与HBcAg相互作用的蛋白进行研究,获得了一种能与HBV核心蛋白结合的新蛋白,将编码该蛋白的基因命名为C1,对其进行克隆化研究,为今后更加广泛深入地研究新基因生物学功能打下基础,并为乙型肝炎发病机制提供了新研究方向。

## 1 材料和方法

**1.1 主要实验材料和试剂** AH109酵母菌株、预转化的cDNA白细胞文库(Y187)、SD/-Trp、SD/-Leu, SD/-Trp/-Leu/-His, SD/-Trp/-Leu/-His/-Ade培养基、X- $\alpha$ -gal购于Clontech公司。感受态大肠杆菌DH5 $\alpha$ 为本室保存, Taq酶、pGEM-T载体及RT-PCR试剂盒购自Promega公司。玻璃奶回收试剂盒购自博大公司。HBV核心蛋白结合蛋白1的基因C1扩增引物合成及DNA序列测定由上海生工生物工程技术有限公司承担。

**1.2 未知功能基因序列的确定** 用酵母双杂交技术筛选白细胞中与HBV核心蛋白结合蛋白的基因。用多聚酶链反应(PCR)法扩增HBV核心蛋白编码基因, 连接入酵母表达载体pGBKT-7中构建诱饵质粒, 转化酵母细胞AH109并在其内表达, 然后与转化了人白细胞cDNA文库质粒pACT2的酵母细胞Y187进行配合, 在营养缺陷型培养基上进行双重筛选阳性菌落, 挑选真阳性菌落17个克隆并测序, 与GenBank数据库进行初步比较, 对其中的一个未知功能基因, 以生物信息学技术对其编码基因序列进行确定。

**1.3 多聚酶链反应(PCR)扩增C1基因** 根据C1的全长编码基因, 设计上下游引物。上游引物: 5' -GAA TTC ATG GAG GAG GTC ATA C-3', 下游引物: 5' -GGA TCC TTA CCA GGG ACA CAG T-3'。提取HepG2细胞的总RNA, 进行反转录, 以反转录产物为模板进行PCR, PCR参数如下: 94 5 min 预变性, 94 50 s 变性, 61 50 s 退火, 72 50 s 延伸, 共35个循环, 72 再延伸10 min。

**1.4 克隆目的片段** 将PCR产物在12 g/L琼脂糖凝胶中电泳, 切取目的片段, 玻璃奶法回收PCR产物, 与pGEM-T载体连接, 转化DH5 $\alpha$ 感受态细菌, 在含氨苄青霉素的LB/X-gal/IPTG培养板上, 37 培养15 h。挑取阳性菌落, 增菌。提取质粒进行限制性酶切分析鉴定, 选择经鉴定的菌落送测序。

## 2 结果

**2.1 HBV核心蛋白结合蛋白1的基因C1序列和编码产物序列** 利用美国国立卫生院(NIH)国立医学图书馆(NLM)国立生物工程中心(NCBI)建立的核苷酸序列数据库(GenBank)及其同源基因序列的搜索(BLASTN), 发现

其中一个新基因与GenBank中注册的已知功能基因序列没有同源。电子拼接推定该基因的开放读码框架获得相应的全长编码基因, 将该未知功能基因命名为乙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白1基因(C1)。编码基因序列全长为366个核苷酸, 编码产物由121个氨基酸残基组成(图1)。新基因的核苷酸序列在GenBank中登录, GenBank注册号为AY555145。

```

ATG GAG GAG GTC ATA CAA GCA GGC CTG GCC
M E E V I Q A G L A
CAG TGG TCC AGA CAG AAG GGC CTG GCC TTG
Q W S R Q K G L A L
CCC TGG GAC AGA ACC AGA GGC CAT CCT GAT
P W D R T R G H P D
GTT CCC TGG AGA AAT CTC ACC TCC TCA CCC
V P W R N L T S S P
ACC AGG CCA TTG GCC CAG CCT GCC GGA AGC
T R P L A Q P A G S
TGC ATG CCA GCG GAG CCC AGC CCT GCT GCC
C M P A E P S P A A
CAC TAC CAC CAG CTC CAT GTG CAC CTC CAG
H Y H Q L H V H L Q
CTC TTG CCC TCT GAC TTG TCT GAG CGT CCC
L L P S D L S E R P
GGG CTT AGG CTG GCC CCA CTG GCC CTG GTG
G L R L A P L A L V
GAG GTG GGG ATG ACT CTC CCA GTG CCA CAG
E V G M T L P V P Q
AAA CTG GCT CCT GGG CGG CAA CTG TGT CCC
T P L P H V T Q Q Q
ACT CCC CTC CCC CAC GTA ACC CAG CAA CAG
K L A P G R Q L C P
TGG TAA
W *

```

图1 C1基因的核苷酸序列及编码产物一级结构序列。

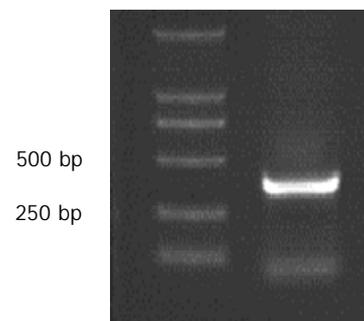


图2 C1基因的RT-PCR产物凝胶电泳图。

**2.2 C1的RT-PCR结果** 以HepG2细胞系cDNA文库为模板, PCR反应后经1.2%琼脂糖凝胶电泳, 可见长度为366 bp的电泳条带, 见图2。PCR产物与T-载体

连接,转化大肠杆菌,提取质粒进行酶切鉴定后送测序.测序结果完全符合C1的拼接序列,表明我们已成功得到C1基因编码序列.

### 3 讨论

蛋白质之间的相互作用是很多生命现象的基础,基因是通过蛋白质之间的相互作用而实现其功能的,因此基因表达的蛋白质功能的研究尤显重要.酵母双杂交系统是近年来新发展起来的一种分析真核细胞中蛋白-蛋白相互作用的一种有效的基因分析方法,他的产生为研究蛋白在体内生理情况下相互作用提供了一种新的遗传学方法.酵母双杂交系统通过将两个推定相互作用的蛋白X和Y被分别融合到一酵母转录激活因子GAL4的结合域(BD)和激活域(AD)上,X与Y的相互作用重构了激活因子,导致下游报告基因的转录,产生容易探测到的表型.本研究中所用的Clontech公司的酵母双杂交系统-3,其在下流有3种报告基因分别为组氨酸、腺苷和半乳糖苷酶(LacZ),加上两种载体中分别带有的亮氨酸、色氨酸,使得真阳性菌落能在铺有X- $\alpha$ -半乳糖苷并缺乏上述4种氨基酸营养的培养板上生长并呈现出蓝色.因为增加了报告基因的种类,采用了多重选择性培养基的筛选,使假阳性的概率大大降低,筛选结果的真阳性率可达95%<sup>[7,16-18]</sup>.

HBV感染后本身并不直接致细胞病变,而是由于宿主的免疫应答引起病变.HBV可侵犯外周血单个核细胞(PBMC)并在其内复制,从而影响PBMC的功能<sup>[19-23]</sup>,多年来的研究认为,HBV感染慢性化主要与机体免疫功能紊乱有关.HBcAg有高免疫原性,几乎所有HBV感染者均产生抗-HBc,HBcAg通过B细胞表面受体轻重链的FR1-CDR1连接区域结合而激活B细胞产生抗体<sup>[13]</sup>,同时还是细胞毒T淋巴细胞(CTL)免疫应答的靶抗原,针对HBcAg的细胞免疫应答在病毒清除中起重要作用<sup>[24]</sup>.HBV核心蛋白与白细胞中的蛋白之间的相互作用在HBV感染及慢性肝炎的发病过程中起着重要的作用.

我们利用酵母双杂交技术,已成功筛选到一系列与乙肝病毒蛋白及丙肝病毒蛋白相结合的蛋白基因,其中,也包括了一些未知功能蛋白的基因<sup>[24-28]</sup>.我们在真核表达载体pGBKT7中构建pGBKT7-HBV core 诱饵质粒并在酵母菌株AH109中表达了HBV核心蛋白基因,与转化了人白细胞cDNA文库的酵母菌株Y187进行配合,筛选出与之相互作用的蛋白基因17种,其中包括HBV核心蛋白结合蛋白C1这一未知功能的新基因,在GenBank中未发现同源序列.确定一个新基因的编码序列,研究该基因的表达与调控,编码蛋白的结构与功能,确定新基因的生物学和医学意义,是医学分子生物学研究领域一项具有挑战性的工作<sup>[4]</sup>.根据GenBank的信息,电子拼接推定该基因的开放读码框架获得相应的全长编码基因,将该未知功能基因命名为C1.我

们设计了新基因C1的上下游引物,并成功地从HepG2细胞的mRNA中逆转录出该基因的完整序列,说明该基因也能在HepG2细胞中表达.PCR反应产物经T-A克隆测序完全符合计算机分析结果,这表明我们已顺利得到了C1编码序列.C1的开放读码框架(ORF)长度为366bp,编码121个氨基酸残基.新基因的发现及克隆化研究为今后更加广泛深入地研究新基因生物学功能及乙型肝炎的发病机制奠定了基础.

### 4 参考文献

- 1 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
- 2 成军,董菁,刘妍,李莉,斯崇文,王勤环,张玲霞,陈菊梅.乙型肝炎病毒准种研究的临床意义.世界华人消化杂志 2002;10:209-211
- 3 成军,刘妍,陆荫英,李克,王琳.乙型肝炎病毒对细胞信号转导的影响.世界华人消化杂志 2003;11:472-474
- 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 张忠东,成军,张树林.噬菌体展示技术的原理及应用.世界华人消化杂志 2003;11:459-461
- 6 董菁,成军,黄甫竞坤,洪源,王刚,陈国凤,李莉,张玲霞,陈菊梅.乙型肝炎病毒准种个体化的研究.解放军医学杂志 2002;27:119-121
- 7 Wang XZ, Jiang XR, Chen XC, Chen ZX, Li D, Lin JY, Tao QM. Seek protein which can interact with hepatitis B virus X protein from human liver cDNA library by yeast two-hybrid system. *World J Gastroenterol* 2002;8:95-98
- 8 Stuyver LJ, Locarnini SA, Lok A, Richman DD, Carman WF, Dienstag JL, Schinazi RF. Nomenclature for antiviral-resistant human hepatitis B virus mutations in the polymerase region. *Hepatology* 2001;33:751-757
- 9 Walton CM, Wu CH, Wu GY. A ribonuclease H-oligo DNA conjugate that specifically cleaves hepatitis B viral messenger RNA. *Bioconjug Chem* 2001;12:770-775
- 10 Wang X, Grammatikakis N, Hu J. Role of p50/CDC37 in Hepadnavirus Assembly and Replication. *J Biol Chem* 2002;277:24361-24367
- 11 Le Pogam S, Shih C. Influence of a putative intermolecular interaction between core and the pre-S1 domain of the large envelope protein on hepatitis B virus. *J Virol* 2002;76:6510-6517
- 12 Daub H, Blencke S, Habenberger P, Kurtenbach A, Dennenmoser J, Wissing J, Ullrich A, Cotten M. Identification of SRPK1 and SRPK2 as the major cellular protein kinases phosphorylating hepatitis B virus core protein. *J Virol* 2002;76:8124-8137
- 13 Lazdina U, Cao T, Steinbergs J, Alheim M, Pumpens P, Peterson DL, Milich DR, Leroux-Roels G, Sallberg M. Molecular basis for the interaction of the hepatitis B virus core antigen with the surface immunoglobulin receptor on naive B cells. *J Virol* 2001;75:6367-6374
- 14 Riedl P, Stober D, Oehninger C, Melber K, Reimann J, Schirmbeck R. Priming Th1 immunity to viral core particles is facilitated by trace amounts of RNA bound to its arginine-rich domain. *J Immunol* 2002;168:4951-4959
- 15 Cao T, Meuleman P, Desombere I, Sallberg M, Leroux-Roels G. In vivo inhibition of anti-hepatitis B virus core antigen (HBcAg) immunoglobulin G production by HBcAg-specific CD4(+) Th1-type T-cell clones in a hu-PBL-NOD/SCID mouse model. *J Virol* 2001;75:11449-11456
- 16 Nagpal S, Ghosn CR, Chandraratna RA. Identification of nuclear receptor interacting proteins using yeast two-hybrid technology. *Methods Mol Biol* 2001;176:359-376
- 17 Serebriiskii IG, Toby GG, Finley RL Jr, Golemis EA. Genomic analysis utilizing the yeast two-hybrid system. *Methods Mol Biol* 2001;175:415-454
- 18 Gietz RD, Woods RA. Screening for protein-protein interactions in the yeast two-hybrid system. *Methods Mol Biol* 2002;185:471-486
- 19 Rico MA, Quiroga JA, Subira D, Castanon S, Esteban JM,

- Pardo M, Carreno V. Hepatitis B virus-specific T-cell proliferation and cytokine secretion in chronic hepatitis B e antibody-positive patients treated with ribavirin and interferon alpha. *Hepatology* 2001;33:295-300
- 20 邢同京, 章廉, 卢桥生, 侯金林, 冯筱榕, 骆抗先. 慢性乙型肝炎用干扰素治疗的Th1/Th2应答. *中华医学杂志* 2000;80:268-270
- 21 张萍, 吴文漪, 魏来. 乙型病毒性肝炎患者外周血T辅助细胞1、2型细胞因子含量的测定及临床意义. *徐州医学院学报* 2001;21:304-306
- 22 胡章勇, 章廉, 文维群, 张明霞, 王燕军, 钱毅, 骆抗先. 干扰素治疗对慢性乙型肝炎患者CTL活性的影响. *中华免疫学杂志* 2002;18:59-61
- 23 戴炜, 余卫业, 姜荣龙. 慢性重型肝炎外周血单个粒细胞内干扰素和白细胞介素的表达及意义. *中华肝脏病杂志* 2001;9(增刊):64-65
- 24 陆荫英, 陈天艳, 成军, 邵清, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 张健, 李克, 张玲霞. 酵母双杂交技术筛选鉴定乙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白新基因C-12的研究. *世界华人消化杂志* 2003;11:1122-1125
- 25 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
- 26 陆荫英, 李克, 成军, 王琳, 刘妍, 段惠娟, 张玲霞. 乙型肝炎病毒X基因酵母表达载体的构建及表达. *世界华人消化杂志* 2002;10:15-18
- 27 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
- 28 张健, 成军, 王琳, 邵清, 陆荫英, 梁耀东, 陈天艳, 洪源. 丙型肝炎病毒非结构蛋白5B结合蛋白的酵母双杂交筛选研究. *解放军医学杂志* 2003;28:768-770

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 •

## 应用基因表达谱芯片技术筛选NS3TP1转染细胞差异表达基因

纪冬, 成军, 刘妍, 王建军, 郭江

纪冬, 成军, 刘妍, 王建军, 郭江, 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  
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, 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: 2004-03-15 接受日期: 2004-05-11

胞后差异表达基因, 为进一步阐明NS3TP1蛋白可能的生物学功能及HCV的致病机制提供理论依据。

纪冬, 成军, 刘妍, 王建军, 郭江. 应用基因表达谱芯片技术筛选NS3TP1转染细胞差异表达基因. *世界华人消化杂志* 2004;12(7):1707-1711

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1707.asp>

### 摘要

目的: 应用基因芯片技术检测丙型肝炎病毒(HCV)非结构蛋白3(NS3)反式激活基因1(NS3TP1)的表达对肝母细胞瘤细胞HepG2基因表达谱的影响, 进一步NS3TP1蛋白可能的分子生物学功能。

方法: 设计并合成NS3TP1基因序列特异性的引物, 应用聚合酶链反应(PCR)技术扩增NS3TP1蛋白编码基因片段, 以常规的分子生物学技术构建表达载体pcDNA3.1(-)-NS3TP1. 以脂质体技术转染肝母细胞瘤细胞系HepG2, 提取总mRNA, 逆转录为cDNA, 与转染空白表达载体pcDNA3.1(-)的HepG2细胞进行DNA芯片分析并比较。

结果: 构建的表达载体经过限制性内切酶分析和DNA序列测定, 证实准确无误, 提取高质量的总mRNA并进行逆转录成为cDNA, 进行DNA芯片技术分析. 在1 152个基因表达谱的筛选中, 发现有26个基因表达水平显著上调, 14个基因表达水平显著下调。

结论: 应用基因表达谱芯片技术成功筛选了NS3TP1转染细

### 0 引言

丙型肝炎病毒(HCV)是含外膜蛋白的单股正链RNA病毒, 在大多数感染人群中表现为持续感染, 常导致慢性肝炎、肝硬化和肝癌<sup>[1-10]</sup>. 虽然HCV致病机制尚不完全清楚, 但病毒基因组编码的蛋白与肝细胞蛋白之间的相互作用肯定起着关键的作用. HCV基因组具有一个长约9 400 bp的单一开放读码框(ORF), 编码一个多肽前体, 在病毒及肝细胞酶的作用下进行剪切, 产生至少10种具有不同功能的蛋白. 其中HCV非结构蛋白3(NS3)具有丝氨酸蛋白酶、三磷酸核苷酶(NTPase)和解旋酶(helicase)的功能, 在HCV多聚蛋白的成熟和病毒复制过程中发挥重要作用, 并且对于宿主多种基因具有反式激活作用, 影响细胞的功能, 诸如细胞增生、凋亡, 甚至是HCV的致癌作用<sup>[11-15]</sup>. 我们对NS3反式激活基因进行筛选和克隆化研究<sup>[16-19]</sup>, 发现了NS3蛋白上调一些基因的表达, 并且包括一些未知功能基因, 其中之一命名为NS3TP1, 利用生物信息学技术确定其ORF, 并对其进行了克隆化研究, 顺利得到了NS3TP1基因编码序列, 该新基因的ORF长度为1 932个核苷酸(nt), 编码产物由642个氨基酸残基(aa)组成(GenBank号: AY116969)<sup>[20]</sup>.