

世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2005 年 7 月 28 日 第 13 卷 第 14 期 (Volume 13 Number 14)



14/2005

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 ●

2005 年 7 月 28 日

第 13 卷

第 14 期

(总第142期)

述 评

- 1645 进一步加强慢性肝炎、肝纤维化治疗研究 姚希贤, 崔东来
1650 胃肠道生理功能的再认识与肠衰竭 丁连安, 黎介寿

胃 癌

- 1652 AGS细胞系中12-LOX的表达及其抑制剂对细胞增殖的影响
黄彩云, 陈丰霖, 李建英, 陈治新, 王小众

肝 癌

- 1658 Maxizyme对肝癌突变抑癌基因p53的抑制作用 李岩, 林菊生, 孔心涓
1663 肝癌组织中TGF- β 1、TGF- β 1R II和NF- κ B的表达
缪林, 张锁林, 季国忠, 范志宁, 刘政, 张平, 杨春
1667 肝细胞癌组织和外周血中肿瘤/睾丸抗原SSX-2和SSX-5的表达
吴力群, 王新建, 张斌, 卢云, 杨金镛
1673 肝细胞肝癌患者肿瘤/睾丸抗原SSX-1及NY-ESO-1mRNA的表达意义
吴力群, 王新建, 卢云, 张斌, 杨金镛
1679 重组人内皮抑素真核表达载体pCD-sEndo的构建和表达 邵俊伟, 刘然义, 易继林, 卢绮萍, 黄文林
1684 蛋白质芯片飞行质谱技术检测体外培养的肝癌细胞株与转染HBV的肝癌细胞株蛋白质的差异表达
丁守怡, 钱冬萌, 闫志勇, 宋旭霞, 牟文凤, 王斌

病毒性肝炎

- 1688 酵母双杂交技术筛选白细胞cDNA文库中新基因NS2TP蛋白结合蛋白基因
张黎颖, 成军, 邓红, 郭江, 郭风劲, 王巧侠
1692 抗HBV多聚酶TP区VH抗体体外可抑制HBV复制 于俊岩, 兰林, 王宇明, 丁世涛
1696 黑龙江地区乙型肝炎病毒耐药变异与基因型 李迪, 张淑云, 谷鸿喜, 程险峰, 王晓燕
1700 丙型肝炎病毒非结构蛋白2反式调节基因NS2TP的克隆化 张黎颖, 成军, 邓红, 刘妍, 王琳

基础研究

- 1705 苷脱氨酶基因对小鼠大剂量化疗的保护作用
路平, 王永来, 金锋, 陈波, 姚凡, 王舒宝, 陈峻青, 徐惠绵, 赵实诚
1713 三氧化二砷注射液对胰腺癌细胞系PC-3的体外作用 刘静冰, 秦叔逵, 李进
1717 消炎痛和阿斯匹林对C57BL/6和Balb/c小鼠胃酸分泌的效应 王昌成
1721 ^{103}Pd 诱导犬胆管增殖平滑肌细胞凋亡及对相关基因的影响
何贵金, 吴荣, 高沁怡, 许书河, 高红, 姜维国, 蒋涛, 戴显伟, 马凯

文献综述

- 1725 热休克蛋白家族与肝癌的关系 吴顺华, 成军, 郑玉建
1731 HCV的基因型及其变异与肝细胞癌的关系 韩苏夏, 刘正稳, 马瑾璐
1734 移植肝细胞基因调控研究 林勇, 曾欣
1737 三氧化二砷治疗肝癌的分子机制 吴顺华, 成军, 郑玉建
1744 丁酸钠抗肿瘤作用的新进展 崔路佳, 高善玲, 裴风华
1747 聚乙二醇 α -干扰素治疗慢性乙型肝炎的研究进展 周平, 谢仁江
1750 人类免疫缺陷病毒与黏膜免疫 杨贵波, 邵一鸣

研究快报

- 1760 胰腺外分泌功能研究大鼠模型的建立 陈小燕, 李兆申, 屠振兴, 曹晓鹏
1762 乳杆菌细胞壁表面黏附相关蛋白的提取和鉴定 王斌, 魏泓
1766 幽门螺杆菌和促胃液素在胃癌前病变中的作用 郑宗茂, 吴灵飞, 冯家琳, 李国平, 王炳周
1768 表皮生长因子及其受体mRNA在胃溃疡发生与愈合过程中的表达 谭永港, 舒晴, 邱猛进, 张永锋
1770 巢式PCR-RFLP法对湖南省乙型肝炎病毒Bj和Ba基因亚型的初步鉴定
温志立, 谭德明, 杨铁一, 徐铿
1773 阿霉素对胃癌细胞内游离 Ca^{2+} 浓度的影响 邢承忠, 路平, 郭晓临, 刘瑾, 徐惠绵, 袁媛
1776 BALB/C小鼠炎症性肠病动物模型建立方法探讨 刘敬军, 郑长青, 潘丽丽, 闻英, 胡刚正

| | |
|------|---|
| 临床经验 | 1779 社会因素对老年人群幽门螺杆菌感染的影响 张玫, 汤哲, 汤欣, 蔡玲, 牛小羽, 孙书春 1781 口服药物致食管溃疡22例 王孟春, 张丽瑶, 钟琳琳 1782 经内镜乳头括约肌预切开术在困难ERCP中的应用 王庆, 秦明放, 勾承月, 李宁, 王震宇, 邹富胜 1785 肠镜检查肠道准备无效率的影响因素 蔡文智, 智发朝, 李凤伶, 陈秀云, 姜泊 1787 中国人与非洲黑人 <i>H. pylori</i> 相关胃十二指肠疾病发生情况比较及分析 廖常奎, Geojanna GA 1790 大肠癌术后时辰化疗联合中医时间医学治疗的临床研究 张思奋, 罗湛滨, 吴文江, 何晶, 范小华 1792 幽默疗法辅助治疗慢性萎缩性胃炎53例 阮鹏, 阮浩然 1794 肝炎肝硬化患者血清IL-10、IL-18水平及意义 谭永港, 刘俊, 丁世华, 刘新民 1797 暴发性胰腺炎时腹腔室隔综合征的联合治疗40例 孙早喜, 孙诚谊 |
| 致 谢 | 1800 致谢世界华人消化杂志编委 |
| 封面故事 | 1652 AGS细胞系中12-LOX的表达及其抑制剂对细胞增殖的影响 黄彩云, 陈丰霖, 李建英, 陈治新, 王小众 世界华人消化杂志 2005;13(14):1652-1657 http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v13/i14/1652.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 |

| | | |
|---|---|---|
| <div>世界华人消化杂志</div> <div>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</div> <div>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 2005-07-28 原刊名 新消化病学杂志</div> <div>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</div> | <div>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: wjgd@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</div> | <div>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.</div> <div>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.</div> <div>2005年版权归世界胃肠病学杂志社所有</div> |
|---|---|---|

| | | | | |
|----------------|--------|--------|--------------------|---------------|
| ISSN 1009-3079 | 邮发代号 | 国外代号 | 国内定价 | 广告经营许可证 |
| CN 14-1260/R | 82-262 | M 4481 | 每期24.00元 全年576.00元 | 1401004000050 |

www.wjgnet.com

抗 HBV 多聚酶 TP 区 VH 抗体体外可抑制 HBV 复制

于俊岩, 兰 林, 王宇明, 丁世涛

于俊岩, 兰 林, 王宇明, 丁世涛, 中国人民解放军第三军医大学西南医院感染病研究所 重庆市 400038

于俊岩, 男, 1969-7-17 生, 山西屯留县人, 汉族, 1992 年长治医学院毕业, 2001 年山西医科大学传染病学硕士研究生毕业, 2003 年至今在第三军医大学攻读传染病学博士学位, 讲师, 主要从事慢性乙型肝炎发病机理研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30100159

通讯作者: 兰林, 400038, 重庆市, 中国人民解放军第三军医大学西南医院感染病研究所。llin6624@hotmail.com

电话: 023-68752193

收稿日期: 2005-05-23 接受日期: 2005-06-08

Variable fragment of heavy chain antibody against TP region of Hepatitis B Virus polymerase inhibits replication of Hepatitis B Virus *in vitro*

Jun-Yan Yu, Lin Lan, Yu-Ming Wang, Shi-Tao Ding

Jun-Yan Yu, Lin Lan, Yu-Ming Wang, Shi-Tao Ding, Department of Infectious Diseases, Southwest Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30100159

Correspondence to: Dr. Lin Lan, Department of Infectious Diseases, Southwest Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400038, China. llin6624@hotmail.com

Received: 2005-05-23 Accepted: 2005-06-08

Abstract

AIM: To study a functional variable fragment of heavy chain (VH) antibody against the terminal protein (TP) region of hepatitis B virus (HBV) polymerase (Pol) and its inhibition on the replication of HBV *in vitro*.

METHODS: The TP region of HBV Pol secreted by the HepG2.2.15 cells was used as an antigen, and the antibodies were selected with protein fragment complementation assay (PCA). The VH antibody gene was cloned into expression vector pZeoSV2(+), and then pZeoSV2(+)-VH was transfected into HepG2.2.15 cells. The contents of HBV DNA in the cells were detected by fluorescent quantitative polymerase chain reaction (FQ-PCR).

RESULTS: Three antibodies against the TP region of HBV were selected. The replication of HBV was markedly inhibited by the anti-TP Pol VH antibodies. The contents of HBV DNA in the pZeoSV2(+)-VH transfected cells (Group C) were significantly higher than those in the non-transfected and pZeoSV2(+) transfected cells (Group A and C) (Supernate: 3.480 ± 0.32 vs 5.268 ± 0.07 , 5.105 ± 0.78 ,

$P < 0.05$; Intracellular: 5.718 ± 0.15 vs 7.716 ± 0.74 , 7.394 ± 0.97 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: The anti-TP Pol VH antibodies can inhibit the replication of HBV in HepG2.2.15 cells.

Key Words: Hepatitis B Virus; Polymerase; Terminal protein region; Heavy chain antibody; Replication

Yu JY, Lan L, Wang YM, Ding ST. Variable fragment of heavy chain antibody against TP region of Hepatitis B Virus polymerase inhibits replication of Hepatitis B Virus *in vitro*. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2005;13(14):1692-1695

摘要

目的: 研究抗 HBV 多聚酶 TP 区 VH 抗体抑制 HepG2.2.15 细胞的 HBV 分泌与复制。

方法: 用 HepG2.2.15 细胞分泌的 HBV 的多聚酶 TP 区作为抗原, 用 PCA 方法进行 VH 抗体选择. VH 抗体基因克隆到真核表达载体 pZeoSV2(+), 把载体转化入 HepG2.2.15 细胞而抑制细胞分泌病毒颗粒. 荧光定量 PCR 检测各组细胞 HBV DNA 含量。

结果: 在抗体库中共选择出 3 个 TP 区相关抗体. 抗 TP 区 VH 抗体可以抑制 HepG2.2.15 细胞分泌病毒颗粒. 加入 VH 抗体的 HepG2.2.15 细胞(C 组)比没加入 VH 抗体的 HepG2.2.15 细胞(A, B 组)分泌病毒颗粒明显减少 (上清内: 3.480 ± 0.32 vs 5.268 ± 0.07 , 5.105 ± 0.78 , $P < 0.05$; 细胞内: 5.718 ± 0.15 vs 7.716 ± 0.74 , 7.394 ± 0.97 , $P < 0.05$).

结论: 抗 HBV 多聚酶 TP 区 VH 抗体可以抑制 HepG2.2.15 细胞的 HBV 分泌与复制。

关键词: 乙型肝炎病毒; 多聚酶; TP 区; VH 抗体; 复制

于俊岩, 兰林, 王宇明, 丁世涛. 抗 HBV 多聚酶 TP 区 VH 抗体体外可抑制 HBV 复制. 世界华人消化杂志 2005;13(14):1692-1695
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1692.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒是引起慢性肝病和肝细胞肝癌的主要原因^[1]. 治疗慢性乙型肝炎是预防肝细胞肝癌的一项重要措施. 在慢性乙型肝炎的治疗中, 重链可变区抗体 (VH) 是一个人工合成的、有特异高亲和力的抗体. 在

本研究中我们检测了重链可变区抗体抑制HBV复制的效果. 有多种技术可以从抗体库中选择特异性抗体, PCA方法在抗体选择中显示出很多优点. 在PCA方法中, mDHFR基因被分割成两部分:mDHFR^[1]和mDHFR^[2], 他们分别与抗原和抗体基因相连. 当编码mDHFR的两个载体被共转化进细菌时, 如果特异性抗原、抗体相互识别, 那么分别与他们相连的mDHFR^[1]和mDHFR^[2]就会接触而恢复完整的mDHFR酶活性, 细菌得以存活.

1 材料和方法

1.1 材料 pZeoSV2(+)、转染试剂盒LipofectamineTM 2000均购自Invitrogen, 限制性内切酶购自新英格兰公司, BD In-FusionTM PCR Cloning Kit购自BD Biosciences Clontech, 测序由上海生物工程公司完成, HepG2. 2. 15细胞由第三军医大学西南医院感染病研究所引进并保存, HBV PCR荧光定量检测试剂盒由上海克隆生物高技术有限公司生产. 用PCA(protein fragment complementation assay, PCA)方法选择HBV多聚酶TP区VH抗体^[2], 共选择出3个抗体^[3], 把带有3个抗体的大肠杆菌菌株BL21(DE3)pLysS分别接种于含有10、100、1 000、10 000 mg/L TMP浓度的M9选择培养基, 只有含有VH1的大肠杆菌能在最高浓度的TMP中存活, 故认为VH1抗体与抗原的亲合力最高.

1.2 方法 把用PCA方法选择出的细菌阳性克隆抽提质粒, 进行PCR扩增VH1. P1:5-TACCGAGCTCGGATCCATGCAGGTGCAGCTGCAG-3, P2:5-CTGGACTAGTGGATCCTCATGAAGAGACGGTGAC-3, PCR反应条件:95℃ 5 min, 95℃ 30 s, 58℃ 45 s, 75℃ 45 s循环35次, 75℃ 10 min. 用BD In-FusionTM PCR Cloning Kit把VH抗体基因插入真核表达载体pZeoSV2(+)(酶切位点为BamHI), 即pZeoSV2(+)-VH, 并进行测序验证. 制备脂质体转染用DNA:转染用质粒pZeoSV2(+)-VH进行去内毒素处理并测得其浓度为718. 83 μg/L. HepG2. 2. 15细胞的培养 HepG2. 2. 15细胞在含100 mL/L胎牛血清的RPMI1640培养基中(含青霉素100 kU/L, 链霉素100 kU/L), 37℃, 体积分数为50 mL/L CO₂的孵箱中用24孔培养板培养. 实验分3组, A组:HepG2. 2. 15细胞单纯培养;B组:pZeoSV2(+)转染HepG2. 2. 15细胞;C组:pZeoSV2(+)-VH转染HepG2. 2. 15细胞. 待细胞生长融合达90%后转染, 按试剂盒手册进行操作. 收集细胞培养液, 加入PEG8000至终浓度为100 g/L, 冰浴放置4 h, 12 000 g离心30 min, 将沉淀溶解于原培养液体积1%的TNE缓冲液中(10 mmol/L Tris-HCl, pH7.5;100 mmol/L NaCl;1 mmol/L EDTA). 加入SDS至终浓度为10 g/L, 蛋白酶K至终浓度为1 g/L, 50℃

孵育2 h. 经酚-氯仿抽提, 乙醇沉淀, 将DNA溶解于TE缓冲液中(10 mmol/L Tris-HCl, pH8.0;1 mmol/L EDTA)^[4]. 再用HBV PCR荧光定量检测试剂盒检测HBV DNA含量:在PCR反应管中加入反应液和样本DNA共26 μL, 各反应管放入LightCycler PCR自动荧光检测仪;PCR扩增:50℃反应1 min, 94℃保温2 min, 再93℃→60℃ 30 s循环40次. 由计算机软件自动分析计算出定量结果, 采用对数平均值的方法计算HBV DNA平均拷贝数.

统计学处理 实验数据以mean±SD表示, 率的显著性差异分析采用SPSS12.0软件.

2 结果

在抗体库中共选择出3个TP区相关抗体, 根据DNA序列和Werner Müller数据库(<http://www.dnaplot.de/input/human-v.html>)标明了3个抗体. PCR扩增VH1(约404 bp)(图1). 在空白质粒pZeoSV2(+))的基础上, 经酶切位点BamHI构建重组质粒, 测序分析(图2)表明质粒插入序列VH与设计相符. 各组培养细胞裂解产物作为模版, PCR扩增VH1抗体(图3). 只有C组可扩增出VH1抗体, 与阳性对照(重组质粒pZeoSV2(+)-VH)的扩增片段相同. 而B组为阴性结果. HepG2. 2. 15培养细胞转染质粒pZeoSV2(+)-VH前后的光镜图片(图4A, B). 通过对各组培养细胞内HBV DNA含量的测定, 转染空白质粒组即B组对HepG2. 2. 15细胞无明显抑制HBV颗粒分泌的作用, 而转染VH抗体质粒组即C组对HepG2. 2. 15细胞却有明显抑制HBV颗粒分泌的作用(表1).

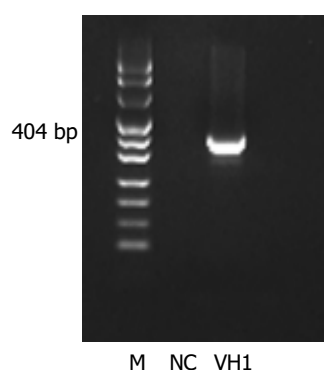


图1 PCR扩增VH1(约404 bp).

表1 HepG2.2.15培养72 h细胞上清内及细胞内HBV DNA含量(拷贝数log值, mean±SD)

| 分组 | n | 上清内 | 细胞内 |
|----|---|---------------------------|---------------------------|
| A | 6 | 5.268 ± 0.07 | 7.716 ± 0.74 |
| B | 6 | 5.105 ± 0.78 | 7.394 ± 0.97 |
| C | 6 | 3.480 ± 0.32 ^a | 5.718 ± 0.15 ^a |

^aP<0.05 vs A, B组.

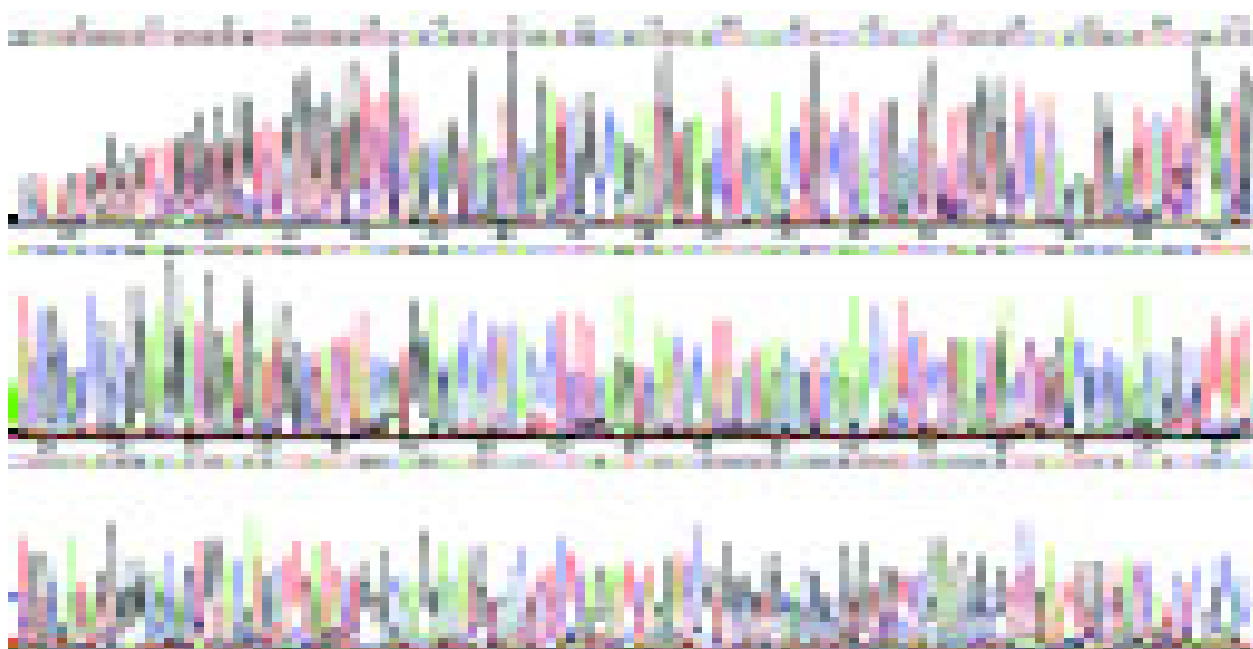


图2 重组质粒 pZeoSV2(+)-VH 测序结果(59 位开始, 424 位结束).

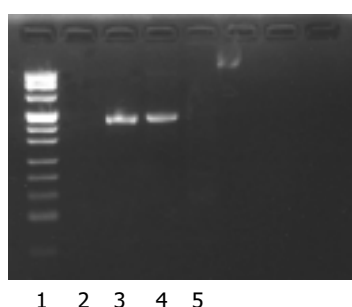


图3 培养细胞裂解产物作为模版, PCR 扩增 VH1 抗体. 1: Marker; 2: 阴性对照; 3: 阳性对照; 4: C 组; 5: B 组.

3 讨论

HepG2. 2. 15 细胞是一种整合 ayw 型 HBV 全基因组, 并且可以表达 HBV 各产物、分泌 HBV 颗粒的肝癌细胞株, 他模拟了 HBV 感染和其基因组已整合到宿主细胞基因组中的状态, 因此用他进行抗病毒的研究比较接近于疾病的治疗过程. 人们试图通过多种努力来阻止 HBV 的复制. 现在的焦点之一是集中于能够干预病毒的复制周期而不影响宿主细胞的代谢功能. HBV 多聚酶就是

一个重要的靶蛋白, 他是一个多功能酶^[5], 在病毒的复制周期中发挥着关键作用. 末端蛋白 (TP) 作为 HBV 多聚酶的组成部分, 具有多种功能, 主要是由前基因组 RNA 反转录负链 DNA 时作为引物; HBV 多聚酶虽然在胞质中合成, 其全部或其裂解形成的 TP 区可移行至胞核内, 以完成反转录中的功能^[6]. 所以抑制或中和 TP 区功能可以有效地抑制 HBV 复制. 重链可变区抗体 (VH) 可在原核细胞或真核细胞内表达, 我们的实验已证明他们有很强的中和抗原的作用, 从而可以对 HepG2. 2. 15 细胞有明显抑制 HBV 颗粒分泌的作用.

细胞内抗体通常指的是 scFv (single chain variable fragments, scFv), 但 scFv 几乎不能在细胞内发挥作用. 因为 scFv 在细胞内质网成熟, 而细胞内的还原环境使 scFv 不能形成二硫键, 这对抗体的正确折叠至关重要, 从而影响 scFv 的可溶性与稳定性. 而 VH 抗体不存在这样的缺陷^[7], VH 抗体不需要链内二硫键也同样具有活性. 重链可变区抗体 (VH) 可在原核细胞或真核细胞内表达, 已证明他们有很强的中和抗原的

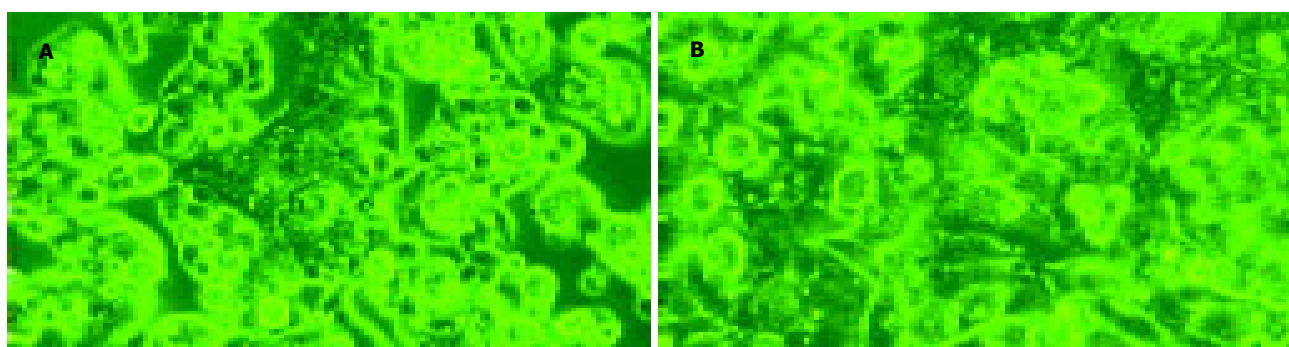


图4 HepG2.2.15 细胞光镜图片 ($\times 200$). A: 转染 pZeoSV2 (+)-VH 前; B: 转染 pZeoSV2 (+)-VH 后.

作用^[8], 如在抗肿瘤蛋白RAS的3种抗体中: scFv, VH和VL(轻链可变区抗体), VH的活性是scFv的5倍, 而VL实验证明无活性. 还有一点, 在选择特异性抗体中, VH抗体库的多样性要比scFv抗体库的多样性小的多.

HBV多聚酶TP区由177个氨基酸组成, 据报道有多个抗原决定簇. 在我们的研究中用PCA方法选择出了具有特定功能的3个抗体, 至于每一个抗体对应的抗原决定簇还需要进一步的实验验证. 已证明对HBV复制有抑制作用的有干扰素、RNA干扰等, 为了进一步证明抗HBV多聚酶TP区VH抗体抑制HBV复制的作用, 我们正在对以上生物制剂进行平行对比, 以及特异性VH抗体的体外表达, 有关实验数据待发表.

4 参考文献

1 Wright TL, Lau JY. Clinical aspects of hepatitis B virus

infection. *Lancet* 1993;342:1340-1344

2 Pelletier JN, Arndt KM, Pluckthun A, Michnick SW. An in vivo library-verse-library selection of optimized protein-protein interactions. *Nat Biotechnol* 1999;17:683-690

3 于俊岩, 兰林, 王宇明, 丁世涛. 抗HBV多聚酶TP区VH抗体体外可抑制HBV复制. *世界华人消化杂志* 2005;13:1692-1695

4 Feng Y, Kong YY, Wang Y, Qi GR. Intracellular inhibition of the replication of hepatitis B virus by hammerhead ribozymes. *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16:1125-1130

5 zu Putlitz J, Lanford RE, Carlson RI, Notvall L, de la Monte SM, Wands JR. Properties of monoclonal antibodies directed against hepatitis B virus polymerase protein. *J Virol* 1999;73:4188-4196

6 Bartenschlager R, Junker-Niepmann M, Schaller H. The P gene product of hepatitis B virus is required as a structural component for genomic RNA encapsidation. *J Virol* 1990;64:5324-5332

7 Holt LJ, Herring C, Jespers LS, Wodven BP, Tomlinson IM. Domain antibodies: proteins for therapy. *Trends Biotechnol* 2003;21:484-490

8 Bird RE, Hardman KD, Jacobson JW, Johnson S, Kaufman BM, Lee SM, Lee T, Pope SH, Riordan GS, Whitlow M. Single chain antigen-binding proteins. *Science* 1988;242:423-426

编辑 潘伯荣 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

中国生物医学基金论文摘要网站开通

本刊讯 中国生物医学基金论文摘要是由世界胃肠病学杂志社研制的大型生物医学基金论文摘要数据库. 该库收录自1995-2004年, 国内生物医学期刊1191种发表各类基金资助论文摘要155115条, 其中国家基金资助的论文为70167条(45.23%), 其他基金资助的论文为84948条(54.76%).

1 本系统的功能

电子杂志: 关键词搜索, 高级搜索(期刊全名、ISSN、年度、单位、题名、摘要、作者、资助), 期刊搜索(A-Z排序). **论文排序:** 期刊论文数, 点击论文数.

2 网址

中国生物医学基金论文摘要(<http://www.wjgnet.com/cmfa/index.jsp>)

3 论文摘要格式

贺修胜, 陈主初, 田芳, 肖志强, 贺智敏, 关勇军, 李峰, 何春梅, 袁建辉. 鼻咽癌中染色体3p21区域一个表达下调的EST的鉴定. *癌症* 2003年;22(1): 1-5

鼻咽癌中染色体3p21区域一个表达下调的EST的鉴定

贺修胜, 陈主初, 田芳, 肖志强, 贺智敏, 关勇军, 李峰, 何春梅, 袁建辉.

湖南 长沙中南大学肿瘤研究所 410078

国家自然科学基金项目 (39970287, 30000188)

背景与目的: 研究显示鼻咽癌细胞3p14-25存在高频杂合性丢失位点. 本研究拟寻找与筛选染色体3p21区域与鼻咽癌相关的表达序列标签(expressed sequence tag, EST), 为定位候选克隆鼻咽癌相关新基因奠定基础. **方法:** 充分利用网上的生物信息资源, 采用定位查找ESTs, 对ESTs进行同源性比较分析、筛选;运用逆转录PCR(reverse transcription-PCR, RT-PCR)方法, 检测ESTs在鼻咽癌和正常鼻咽组织中的表达;并用Northern blot杂交方法, 检测EST在人其他正常组织及肿瘤细胞系的表达状况. **结果:** 在3p21区域筛选到一个在鼻咽癌中表达下调的EST(N31985), 在60.00%(3/5)的鼻咽癌细胞株及47.06% (16/34)的鼻咽癌活检组织检测到有EST(N31985)表达下调, 与正常鼻咽上皮组织相比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$). **结论:** 染色体3p21区域EST(N31985)在鼻咽癌中表达下调, 提示其可能参与鼻咽癌癌变过程. (*世界胃肠病学杂志* 2004-06-15)