

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><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> <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><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</div><div>出版 世界胃肠病学杂志社 100023, 北京市2345信箱 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com 电话: 010-85381901 传真: 010-85381893</div><div>印刷 北京科信印刷厂</div><div>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)</div><div>订购 全国各地邮电局</div><div>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>	<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

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

张黎颖, 成军, 北京地坛医院传染病研究所 北京市 100011
邓红, 西安交通大学第二医院感染科 陕西省西安市 710004
刘妍, 王琳, 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
北京市 100039
张黎颖, 女, 1978-10-26 生, 陕西省西安市人, 汉族, 2002 年毕业于西安交
通大学临床医学系, 获医学学士学位, 2005 年毕业于西安交通大学医学系, 获
医学硕士学位, 主要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。
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”科技攻关项目, No. 01MB135
通讯作者: 成军, 100011, 北京市东城区安外大街地坛公园 13 号, 北京市地
坛医院传染病研究所。cj@genetherapy.com.cn
电话: 010-64481639 传真: 010-64281540
收稿日期: 2005-01-11 接受日期: 2005-05-25

Cloning and identification of gene NS2TP transregulated by non-structural protein 2 of hepatitis C virus

Li-Ying Zhang, Jun Cheng, Hong Deng, Yan Liu, Lin Wang

Li-Ying Zhang, Jun Cheng, Institute of Infectious Diseases, Beijing Ditan
Hospital, Beijing 100011, China
Hong Deng, Department of Infectious Diseases, the Second Hospital of
Xi'an Jiaotong University Xi'an 710004, China
Yan Liu, Lin Wang, Research Center of Gene Therapy, the 302 Hospital
of Chinese PLA, Beijing 100039, China
Supported by National Science Foundation of China, No.C03011402,
No.C30070689; Returned Scholar Foundation of General Logistics Depart-
ment of Chinese PLA, No. 98H038; the Science and Technique Founda-
tion of Chinese PLA during the 9th and 10th Five-Year Period, No.98D063,
No.01MB135; and the Science and Technique Foundation of Chinese PLA
for Young Scholars during the 10th Five-Year Plan Period, No. 01Q138
Correspondence to: Dr. Jun Cheng, Institute of Infectious Diseases,
Beijing Ditan Hospital, Beijing Dongcheng District, 13 Anwai Avenue
100011, China. cj@genetherapy.com.cn
Received: 2005-01-11 Accepted: 2005-05-25

Abstract

AIM: To clone and identify the new gene NS2TP transregulated
by the non-structural protein 2 of hepatitis C virus.

METHODS: Based on the subtractive cDNA library of genes
transregulated by NS2 protein of hepatitis C virus, the
coding sequence of the new gene was obtained by
bioinformatics methods. Polymerase chain reaction (PCR)
was conducted to amplify NS2TP gene.

RESULTS: The coding sequence of new gene was cloned
and identified successfully. The coding region of NS2TP
gene had a length of 456 nucleotides and the coding prod-
uct pocessed 151 amino acid residues. After searching in
GenBank and SwissProt, the new gene had no significant

homology with the genes we have known, and its func-
tions remained unknown.

CONCLUSION: A new target gene, transregulated by HCV
NS2 protein, is recognized.

Key Words: Hepatitis C virus; Non-structural protein 2;
Transregulation; Clone

Zhang LY, Cheng J, Deng H, Liu Y, Wang L. Cloning and identification
of gene NS2TP transregulated by non-structural protein 2 of hepatitis
C virus. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2005;13(13):1700-1704

摘要

目的: 克隆化 HCV 非结构蛋白 2(NS2)蛋白反式调节靶
基因(NS2TP)。

方法: 依据我们构建的 HCV NS2 反式调节基因差异表
达的 cDNA 消减文库筛选结果, 利用分子生物学与生
物信息技术获得新基因 NS2TP 的编码序列, 设计特
异性引物, 并对其进行克隆化研究。

结果: NS2TP 基因编码区为 456 核苷酸(nt), 编码产物
为 151 氨基酸残基(aa), 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, 属于未知功能新基因。

结论: 发现了 HCV NS2 反式调节新的靶基因。

关键词: 丙型肝炎病毒; 非结构蛋白 2; 反式调节; 克隆

张黎颖, 成军, 邓红, 刘妍, 王琳. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 2 反式调节基因
NS2TP 的克隆化. 世界华人消化杂志 2005;13(14):1700-1704
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1700.asp>

0 引言

丙型肝炎病毒(HCV)的非结构蛋白 2(NS2)除了作为非
结构蛋白 3(NS3) 丝氨酸蛋白酶的辅助因子, 在 HCV 多
蛋白的酶解过程中具有重要作用. 关于 NS2 蛋白的生物
学功能目前还知之甚少^[1]. 为了研究 NS2 蛋白在肝细胞
中新生物学功能, 发现并鉴定一系列 NS2 蛋白反式
调节的靶基因, 其中包括一些未知功能的新基因^[2-3].
我们在成功构建转染 HCV NS2 表达载体的 HepG2 细胞
差异表达基因 cDNA 消减文库的基础上, 克隆未知功

```

1  atg ccg cgt gga agc cga agc cgc acc tcc cgc
   M  P  R  G  S  R  S  R  T  S  R
46 gcc agc cgg gcc cct cag atg aga gct gca ccc
   A  S  R  A  P  Q  M  R  A  A  P
91 gtc gct cag cca cca gca gcg gca ccc cca tct
   V  A  Q  P  P  A  A  A  P  P  S
136 tct gct gct gcg ccc cgg cag cca ggt ctg atg
    S  A  A  A  P  R  Q  P  G  L  M
181 acc act gca gct ggc gtg gct gtg ggc tct gct
    T  T  A  A  G  V  A  V  G  S  A
226 ttg ggt cac gcc att act ggg ggc ttc agt gga
    L  G  H  A  I  T  G  G  F  S  G
271 gag cct gcg agg cct gac atc act tac cag gag
    E  P  A  R  P  D  I  T  Y  Q  E
316 cag ccg gca cag cag cag cag cct tgc ctc tat
    Q  P  A  Q  Q  Q  Q  P  C  L  Y
361 ttt ctg gag tgt gcc cag aac cag ggt gac atc
    F  L  E  C  A  Q  N  Q  G  D  I
406 ggt ttc aat gag gtg ctg aaa cag tgc cga ctt
    G  F  N  E  V  L  K  Q  C  R  L
451 gcc taa 456
    A  *

```

图1 NS2TP 核苷酸及蛋白序列.

能基因NS2TP, 为今后更加广泛深入地研究新基因的生物功能打下基础, 并为研究HCV NS2的反式调节作用、丙型肝炎发病机制提供了新的思路.

1 材料和方法

1.1 材料 肝母细胞瘤细胞系HepG2及感受态大肠杆菌DH5 α 为本室保存, Taq酶、T4 DNA连接酶、pGEM-T(Promega), 玻璃奶回收试剂盒购自博大公司, DNA序列测定由上海联合基因公司完成. 利用抑制性消减杂交技术构建NS2反式调节基因差异表达的cDNA消减文库, 挑选30个克隆测序, 与GenBank数据库进行初步比较. 3个克隆未检索到任何已知同源基因序列, 可能代表了某些新基因, 将其一未知功能基因命名为NS2TP, 发现其开放读码框长456 bp, 编码151个氨基酸残基.

1.2 方法 应用Vector 8.0版软件将推断的ORF翻译为氨基酸序列, 并将氨基酸序列与储存在GenBank中已知的氨基酸的进行比较, 并进行功能分析. 根据NS2TP的全长编码基因, 设计上下游引物. 上游引物5' -GAA TTC ATG CCG CGT GGA AGC CGA-3', 下游引物5' -GGA TCC TTA GGC CAA TCC GTT TGC-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 $^{\circ}$ C 5 min 预变性, 94 $^{\circ}$ C 30 s 变性, 62 $^{\circ}$ C 30 s 退火, 72 $^{\circ}$ C 30 s 延伸, 共35个循环, 72 $^{\circ}$ C延伸10 min. 将PCR产物在9 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 α 感受态细菌, 在含氨苄青霉素的LB/X-gal/IPTG培养板上, 37 $^{\circ}$ C培养18 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

新基因的开放读码框架(ORF)长度为456个核苷酸(nt), 编码产物由151个氨基酸残基(aa)组成(图1). 新基因的核苷酸序列在GenBank中登录, GenBank收录号为AY605046. 在NIH网站应用rpsBLAST软件以NS2TP基因编码的推断氨基酸序列进行搜索, 发现氨基酸序列114-147 aa是一CHCH结构域([coiled coil 1]-[helix 1]-[coiled coil 2]-[helix 2] domain, CHCH domain)(图2), Marchler-Bauer *et al*^[4]发现了这一保守结构域, 并与相关成员比较发现三种蛋白亚群具有该结构域, 分别是S(Small, 小蛋白), N(N-terminal extended, N末端扩展蛋白)和C(C-terminal extended, C末端扩展蛋白), 结构域中的每一个螺旋的C-X9-C基序含有两个半胱氨酸残基. N末端扩展蛋白包括一些特殊蛋白, 例如Cox19蛋白、Mrp10、NDUFA8. Cox19是酿酒酵母和基因, 编码11 ku的蛋白, 存在于胞质和线粒体中, 为细胞色素氧化酶表达所需^[5-6]. 应用internet上motif scan软件, 以NS2TP基因编码的氨基酸序列进行搜索, 发现该蛋白具有以下基序: 2个酪蛋白激酶2(CK2)磷酸化位点(位于氨基酸残基88-91 aa, 98-101 aa), 4个N-端酰基化位点(44-49 aa, 65-70 aa, 82-87 aa, 104-109 aa), 1个蛋白激酶C(PKC)磷酸化位点(位于

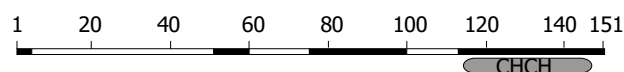


图2 NS2TP 蛋白保守结构域的生物信息学分析结果.

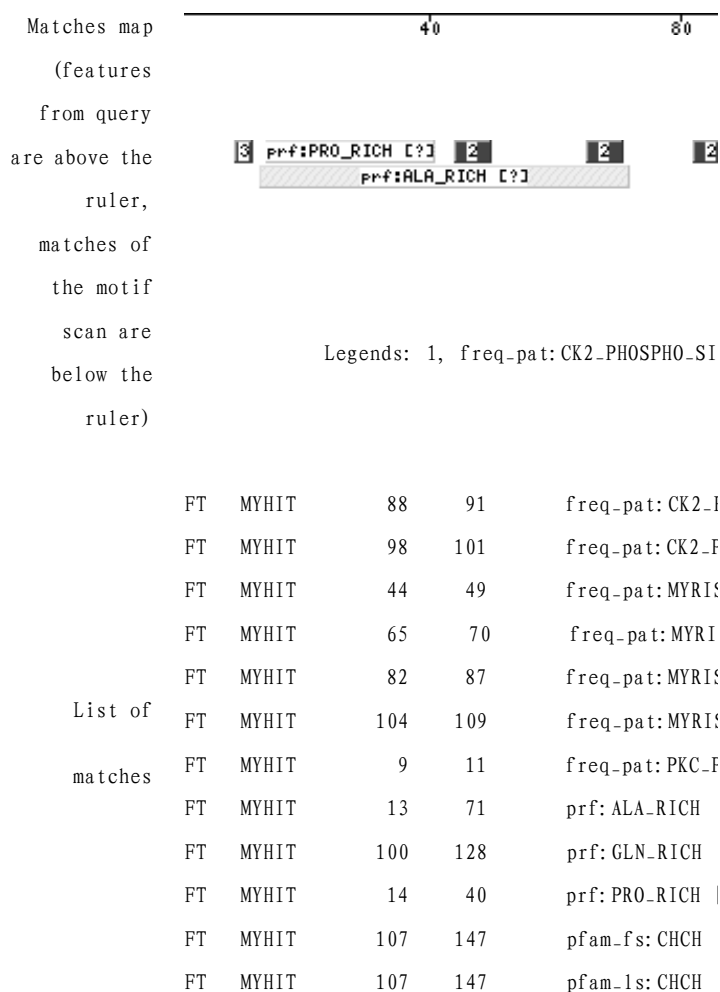


图3 NS2TP 基序分析.

氨基酸残基 9-11 aa), 丙氨酸富集区(位于氨基酸残基 13-71 aa), 谷氨酰胺富集区(位于氨基酸残基 100-128 aa), 脯氨酸富集区(位于氨基酸残基 14-40 aa), 1 个 CHCH 结构域(位于氨基酸残基 107-147 aa)(图 3).

以 HepG2 细胞系 cDNA 文库为模板, PCR 反应后经 0.9% 琼脂糖凝胶电泳, 可见长度为 456 bp 的电泳条带, 见图 4. 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, 结果见图 5. 测序结果完全符合 NS2TP 的推断序列, 见图 6, 表明我们已顺利得到 NS2TP 基因编码序列.

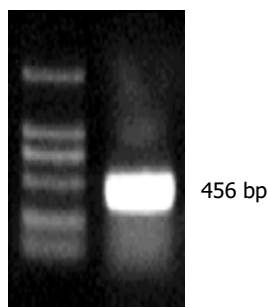


图4 NS2TP RT-PCR 结果.

3 讨论

丙型肝炎病毒非结构蛋白 2 (HCV NS2) 位于 HCV 多蛋白前体 810-1 026 aa 之间, 编码 216 个氨基酸残基. 已有研究发现 NS2 是一种金属 / 半胱氨酸蛋白酶, NS2-3 酶活性的存在成为目前治疗丙型肝炎的一个药物作用靶点^[7]. Yamaga *et al*^[8] 研究 NS2 的膜定位机制发现, NS2 本身具有至少 2 个与其膜定位相关的内部信号序列, 分别位于氨基酸 839-883 aa 和 928-960 aa 区. 他们还预测 NS2 具有 4 个跨膜结构, 亲水性图谱和 NS2 的拓扑学分析显示四个跨膜区分别位于氨基酸 810-835 aa, 843-866 aa, 872-919 aa 和 928-956 aa 区,

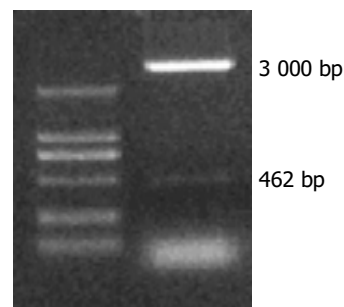


图5 pGEM-T-NS2TP 质粒 EcoRI/BamHI 酶切图.

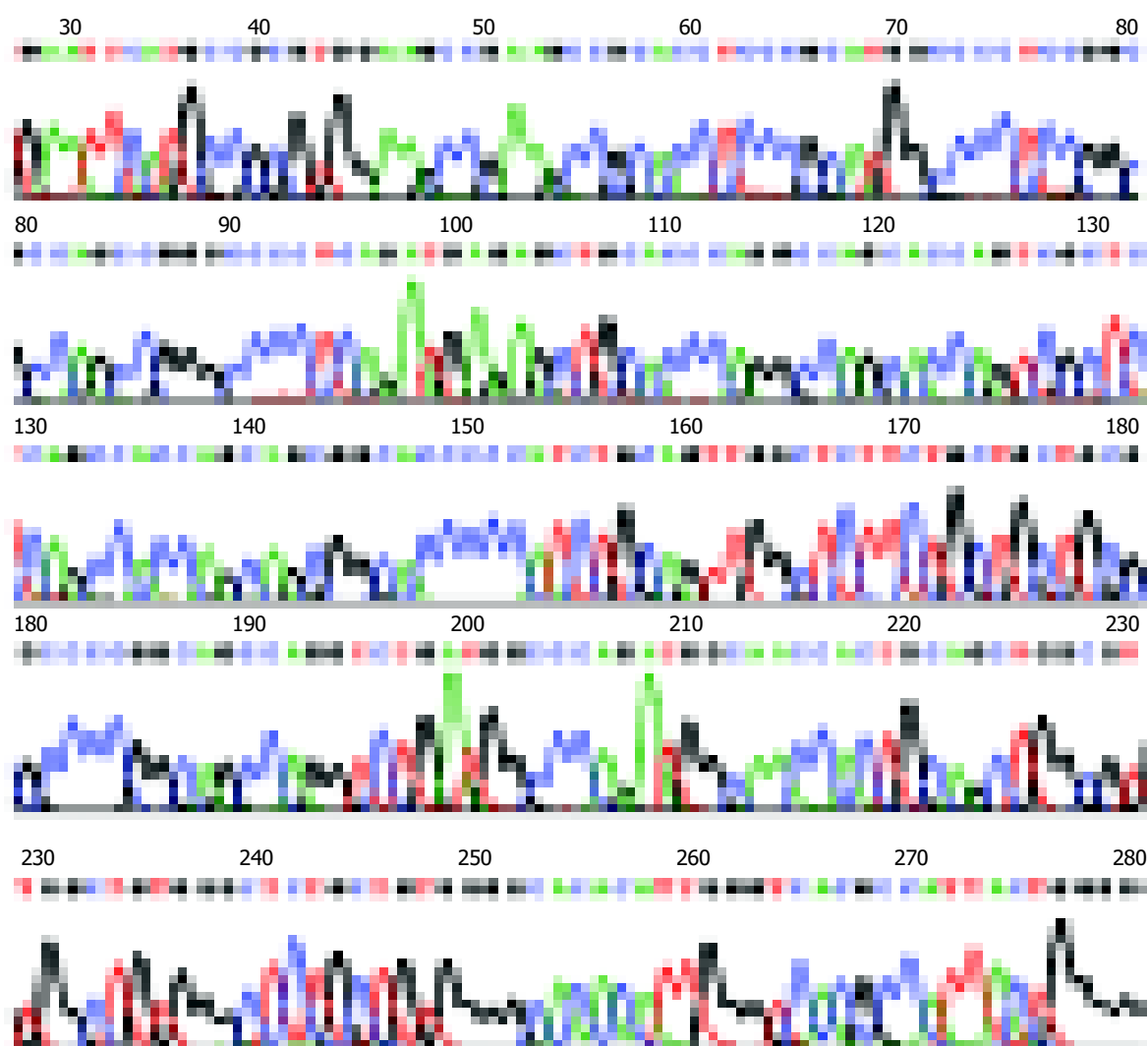


图6 部分pGEM-T-NS2TP测序结果.

其氨基末端和羧基末端均定位在内质网腔内, 但NS2的功能还有待于进一步研究^[9]. 抑制性消减杂交技术(suppression subtractive hybridization, SSH)是20世纪90年代后期建立的一种基因克隆的新技术, 可以快速有效地检测到差异表达的基因, 而且其可能检测到的结果具有无限可能性, 与高通量筛选的技术-基因芯片技术相比, 发现新基因是其独特的优势^[10-12]. 本实验室采用SSH技术成功筛选了多条新基因^[13-15]. 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^[16]. 本项研究发现了NS2TP基因, 这是一种未知功能的新基因, 对于这一新基因结构与功能的研究虽然还是空白, 但是从生物信息学分析结果来看, NS2TP基因编码产物具有CHCH结构域, 根据其同源结构蛋白的亚细胞定位和功能研究, 推测NS2TP基因编码产物存在于胞质和线粒体中, 与细胞色素氧化酶功能相关.

NS2TP基因开放读码框架(ORF)长度为456个核苷

酸(nt), 编码产物由151个氨基酸残基(aa)组成, GenBank 收录号为AY605046. 应用motif scan分析发现, NS2TP可能具有以下基序: 2个酪蛋白激酶2(CK2)磷酸化位点(位于氨基酸残基88-91, 98-101), 4个N端酰基化位点(44-49, 65-70, 82-87, 104-109), 1个蛋白激酶C(PKC)磷酸化位点(位于氨基酸残基9-11), 丙氨酸富集区(位于氨基酸残基13-71), 谷氨酰胺富集区(位于氨基酸残基100-128), 脯氨酸富集区(位于氨基酸残基14-40), 1个CHCH结构域(位于氨基酸残基107-147). CK2是1969年Pinna *et al*^[17-24]发现的酪蛋白激酶, 到目前CK2的内源性底物已发现307个, 这些蛋白质底物具有非常重要的生物学作用, 其中60余个是转录因子, 40余个与基因转录和表达有关的核蛋白, 10多个翻译因子和80多个在细胞信号转导中发挥不同功能的蛋白质(这些蛋白质大多数组成了细胞的信号转导网络). NS2TP作为CK2的潜在底物, 可能具有类似的生物学功能, 需要进一步研究. 酰基化和磷酸化是蛋白质合成后的修饰方式, 不同氨基酸富集区可能会决定蛋白质结构和功能的不同. 这些结果均可对研究

NS2TP 新基因的结构的功能有一定的指导意义。

生物信息学技术伴随计算机网络的发展而产生,其强大的功能使其已经成为生命科学研究的重要手段^[25-30]。我们成功克隆 HCV NS2 下调靶基因 NS2TP,并利用生物信息学分析技术对其进行了初步分析,为新基因的研究奠定基础,同时也为研究 HCV NS2 的生物学功能,阐明 HCV 的致病机制提供了新的方向。

4 参考文献

- 1 成军. 丙型肝炎病毒致病的分子生物学机制. 解放军医学杂志 2003;28:23
- 2 张黎颖, 成军, 邓红. 应用抑制性消减杂交技术克隆丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS2 反式调节基因. 中西医结合肝病杂志 2005;15:(待发表)
- 3 刘妍, 成军, 王建军. 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
- 4 Marchler-Bauer A, Anderson JB, DeWeese-Scott C, Fedorova ND, Geer LY, He S, Hurwitz DI, Jackson JD, Jacobs AR, Lanczycki CJ, Liebert CA, Liu C, Madej T, Marchler GH, Mazumder R, Nikolskaya AN, Panchenko AR, Rao BS, Shoemaker BA, Simonyan V, Song JS, Thiessen PA, Vasudevan S, Wang Y, Yamashita RA, Yin JJ, Bryant SH. "CDD: a curated Entrez database of conserved domain alignments". *Nucleic Acids Res* 2003;31:383-387
- 5 Nobrega MP, Bandeira SC, Beers J, Tzagoloff A. Characterization of COX19, a widely distributed gene required for expression of mitochondrial cytochrome oxidase. *J Biol Chem* 2002;277:40206-40211
- 6 Tay SK, Nesti C, Mancuso M, Schon EA, Shanske S, Bonilla E, Davidson MM, Dimauro S. Studies of COX16, COX19, and PET191 in human cytochrome-c oxidase deficiency. *Arch Neurol* 2004;61:1935-1937
- 7 Bartenschlager R, Ahlborn-Laake L, Mous J. Nonstructural protein 3 of the hepatitis C virus encodes a serine-type proteinase required for cleavage at the NS3/4 and NS4/5 junctions. *J Virol* 1993;67:3835
- 8 Yamaga AK, Ou JH. Membrane topology of the hepatitis C virus NS2 protein. *J Biol Chem* 2002;277:33228-33234
- 9 张黎颖, 成军, 邓红. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS2 的研究进展. 胃肠病和肝病杂志 2005;15:(待发表)
- 10 Rebrikov DV, Desai SM, Siebert PD, Lukyanov SA. Suppression subtractive hybridization. *Methods Mol Biol* 2004;258:107-134
- 11 Diatchenko L, Lukyanov S, Lau YF, Siebert PD. Suppression subtractive hybridization: a versatile method for identifying differentially expressed genes. *Methods Enzymol* 1999;303:349-380
- 12 Diatchenko L, Lau YF, Campbell AP, Chenchik A, Moqadam F, Huang B, Lukyanov S, Lukyanov K, Gurskaya N, Sverdlov ED, Siebert PD. Suppression subtractive hybridization: a method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:6025-6030
- 13 王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 纪冬, 党晓燕, 王春花. 应用抑制性消减杂交技术筛选丙型肝炎病毒非结构蛋白 5A 反式激活基因 6 的反式激活基因的筛选. 世界华人消化杂志 2004;12:54-57
- 14 张黎颖, 成军, 邓红, 王春花, 刘妍. 乙型肝炎病毒 DNA 聚合酶逆转录酶蛋白反式调节基因 1 的克隆化研究. 胃肠病学和肝病杂志 2004;13:466-470
- 15 杨倩, 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 张树林. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS5A 反式激活基因 2 基因组 DNA 结构分析及其不同剪切体的克隆化研究. 世界华人消化杂志 2004;12:801-804
- 16 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
- 17 Pinna LA, Clari G, Moret V. Isolation and enzymatic phosphorylation of rat liver cytosol phosphoproteins. *FEBS Lett* 1969;5:77
- 18 Arrigoni G, Marin O, Pagano MA, Settimo L, Paolin B, Meggio F, Pinna LA. Phosphorylation of calmodulin fragments by protein kinase CK2. Mechanistic aspects and structural consequences. *Biochemistry* 2004;43:12788-12798
- 19 Loizou JI, El-Khamisy SF, Zlatanou A, Moore DJ, Chan DW, Qin J, Sarno S, Meggio F, Pinna LA, Caldecott KW. The protein kinase CK2 facilitates repair of chromosomal DNA single-strand breaks. *Cell* 2004;117:17-28
- 20 Pinna LA. The raison d'être of constitutively active protein kinases: the lesson of CK2. *Acc Chem Res* 2003;36:378-384
- 21 Meggio F, Pinna LA. One-thousand-and-one substrates of protein kinase. CK2? *FASEB J* 2003;17:349-368
- 22 Pinna LA. Protein kinase CK2: a challenge to canons. *J Cell Sci* 2002;115(Pt 20):3873-3878
- 23 Sarno S, Ghisellini P, Pinna LA. Unique activation mechanism of protein kinase CK2. The N-terminal segment is essential for constitutive activity of the catalytic subunit but not of the holoenzyme. *J Biol Chem* 2002;277:22509-22514
- 24 Meggio F, Negro A, Sarno S, Ruzzene M, Bertoli A, Sorgato MC, Pinna LA. Bovine prion protein as a modulator of protein kinase CK2. *Biochem J* 2000;352(Pt 1):191-196
- 25 Valencia A, Bateman A. Increasing the impact of bioinformatics. *Bioinformatics* 2005;21:1
- 26 Li X, Zhang Y. Bioinformatics Data Distribution and Integration via Web Services and XML. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2003;1:299-303
- 27 Friedhoff P. Mapping protein-protein interactions by bioinformatics and cross-linking. *Anal Bioanal Chem* 2005;381:78-80
- 28 Pazos F, Guigas D, Valencia A, De Lorenzo V. MetaRouter: bioinformatics for bioremediation. *Nucleic Acids Res* 2005;33:D588-592
- 29 Cattley S. A review of bioinformatics degrees in Australia. *Brief Bioinform* 2004;5:350-354
- 30 Cooper MS, Sommers-Herivel G, Poage CT, McCarthy MB, Crawford BD, Phillips C. The Zebrafish DVD Exchange Project: a bioinformatics initiative. *Methods Cell Biol* 2004;77:439-457

编辑 潘伯荣 审读 张海宁