

茶尺蠖小 RNA 病毒 5' 端非编码区的克隆和测序 及与哺乳动物小 RNA 病毒的比较分析

王小纯^{1,2}, 张珈敏¹, 蒋洪¹, 俞海洋¹, 谭莉¹, 胡远扬^{1*}

(1. 武汉大学生命科学院, 武汉 430072; 2. 河南农业大学农学院, 郑州 450002)

摘要: 用 Trizol 从纯化的茶尺蠖 *Ectropis oblique* 小 RNA 病毒 (EoPV) 中提取病毒基因组 RNA, 逆转录后加 poly(dT), 然后进行两步 PCR 扩增基因组 5' 端。克隆测序后, 对其 5' 端非编码区的核苷酸序列进行分析, 发现具有哺乳动物小 RNA 病毒的 5' 端非编码区的一些特征: A/T 含量丰富、起始密码子上游 AUG 和小顺反子多。利用 mfold 预测了 EoPV 5' 端非编码区的二级结构, 存在 4 个茎环结构, 有哺乳动物内部核糖体进入位点 (IRES) 的保守区域, 即含保守基序 GNRA 的茎环 A 和 A/C 丰富的环 B 及多聚嘧啶区域。据此推测 EoPV 基因组翻译采用 IRES 起始机制。

关键词: 茶尺蠖小 RNA 病毒; 哺乳动物小 RNA 病毒; 5' 端非编码区; 结构分析

中图分类号: Q966 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2004)05-0573-06

Cloning and sequencing of the 5' untranslation region of *Ectropis oblique* picornavirus with a comparison to that of mammalian picornaviruses

WANG Xiao-Chun^{1,2}, ZHANG Jia-Min¹, JIANG Hong¹, YU Hai-Yang¹, TAN Li¹, HU Yuan-Yang^{1*} (1. College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China; 2. Agronomy College, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: After the genomic RNA was extracted from purified *Ectropis oblique* picornavirus (EoPV) virions with Trizol, cDNA fragments complementary to EoPV RNA were synthesized using reverse transcriptase and added poly(dT) tail. The 5' terminus was amplified by two-step PCR. After being cloned and sequenced, the 5' UTR of EoPV was compared with that of mammalian picornaviruses. Like the 5' UTRs of mammalian picornaviruses, the 5' UTR of EoPV was rich in A/T, and had many AUG and small cistrons positioned upstream from the authentic initiation codon. The second structure of 5' UTR of EoPV was predicted with the mfold software. There were 4 stem-loops, and conserved motifs of mammalian IRESs, including stem-loop A, loop B (A/C rich) and polypyrimidine tract. Based on the characteristics of 5' UTR of EoPV, the genome was suggested to be translated with IRES mechanism.

Key words: *Ectropis oblique* picornavirus; mammalian picornaviruses; 5' untranslation region; structural analysis

武汉大学昆虫病毒研究室于 2000 年从核型多角体病毒 (NPV) 感染致死的茶尺蠖 *Ectropis oblique* 幼虫体内分离到一株直径约 26 nm 的单链 RNA 病毒 (王小纯等, 2004), 其基因组序列测定 (GenBank 注册号: AY365064) 与分析表明, 它与哺乳动物小 RNA 病毒及家蚕软化病毒 (IFV)、蜜蜂囊雏病毒 (SBV) 和榕透翅毒蛾小 RNA 病毒 (PnPV) 有相似的基因组结构 (Wang *et al.*, 2004), 属于昆虫小 RNA 病毒。昆虫小 RNA 病毒在分子生物学水平上的研究起步较晚, 1998 年首次报道了蜜蜂囊雏病毒的全

基因组序列。至今已公布了 15 株昆虫小 RNA 病毒基因组序列。昆虫小 RNA 病毒依据其基因组结构分为两大类: 一类包括 SBV、IFV、PnPV 和茶尺蠖小 RNA 病毒 (*Ectropis oblique* picornavirus, EoPV), 仅含一个大的开放阅读框 (ORF), 翻译产生一条大分子蛋白质前体, 然后加工成各种结构蛋白和非结构蛋白; 另一类包括蟋蟀瘿病毒 (CrPV)、禾谷缢管蚜病毒 (*Rhopalosiphum padi* virus, RhPV) 和大豆尺蠖病毒 (*Plautia stali* intestinal virus, PSIV) 等, 基因组含两个开放阅读框, 5' 端 ORF1 翻译合成非结构蛋白前体;

3'端 ORF2 翻译合成结构蛋白前体(王小纯等, 2003)。对 C₁PV、RhPV 和 PSIV 的研究表明,其 5'端非编码区有内部核糖体进入位点(IRES),起始 ORF1 的翻译;两个 ORF 之间的间隔序列(intergenic origin)也有 IRES,起始 ORF2 的翻译(Kathryn *et al.*, 2001; Jan and Sarnow, 2002; Nishiyama *et al.*, 2003)。其间隔序列 IRES 与 5'非编码区 IRES 最大的区别在于:间隔序列 IRES 从 CUU 起始结构蛋白的翻译(Sasaki and Nakashima, 1999),且 CUU 不与任何氨酰 tRNA 反密码子配对,因而在蛋白质延伸的第一个循环没有形成肽键(Wilson *et al.*, 2000)。

Toyoda 等(1984)首次测定了三株脊髓灰质炎病毒全序列,与真核细胞 mRNA 5'端非编码区比,哺乳动物小 RNA 病毒 5'端非编码区长,无帽子结构,具有多个 AUG 和小顺反子。这些特点导致内部核糖体进入位点翻译起始机制的发现(Pelletier *et al.*, 1988)。Jackson 等(1994)研究发现,哺乳动物小 RNA 病毒 5'端非编码区的内部核糖体进入位点分为两类:Ⅰ型 IRES 包括肠炎病毒属 *Enterovirus* 和鼻病毒属 *Rhinovirus*, 以脊髓灰质炎病毒(*poliovirus*, PV)为代表,无 poly(C)区,茎环结构(stem-loop)较少;Ⅱ型 IRES 包括心肌炎病毒属 *Cardiovirus* 和鹅口疮病毒属 *Aphthovirus*, 以脑心肌炎病毒(*Encephalomyocardiovirus*, EMCV)为代表,有较复杂的茎环结构;甲肝病毒(*Hepatitis A virus*, HAV)的 IRES 结构介于Ⅰ型和Ⅱ型之间。哺乳动物小 RNA 病毒 5'端内部核糖体进入位点仅能在哺乳动物细胞系起始翻译,而 RhPV 5'端内部核糖体进入位点则可在动物、昆虫和植物细胞系中起始蛋白质翻译(Kathryn *et al.*, 2001)。内部核糖体进入位点作为蛋白质翻译的起始信号,已被广泛应用于构建二顺反子真核表达载体,如肿瘤坏死因子(TNF- α , 赖冠华等, 1997)和白细胞介素(IL-12, 章卫平和曹雪涛, 1998)等;也有用于基因治疗(Morgen *et al.*, 1992; Licht *et al.*, 1997)的报道。茶尺蠖小 RNA 病毒(EoPV)是我国首次测定并且登录 GenBank 的小 RNA 病毒,对其 5'端非编码区与哺乳动物 5'端非编码区进行比较分析,预测其 IRES 的二级结构,为进一步确定其 IRES 元件、构建真核表达载体提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 实验材料

茶尺蠖小 RNA 病毒由武汉大学生命科学院昆

虫病毒研究室繁殖、分离、纯化、鉴定和保管。

1.2 5'端非编码区获得

用 Trizol 试剂(GibcoBRL)提取病毒基因组 RNA,以 P6 (5'-GTAGAGCGCTCCGTCGATTCAGC-3')为引物,在 Superscript II (Invitrogene)催化下于 50℃ 逆转录 40 min。RNaseH 消化后,用玻璃奶(TaKaRa)回收,以除去小分子 cDNA。在 TdT(TaKaRa)催化下,将 cDNA 5'端加 poly(dA)尾,然后以 P6 和 QT(5'-CCAGTGAGCAGAGTGACGAGGACTCGAGCTCAAGCTT-TTTTTTTTTTTTTT-3')为引物,采用两步 PCR 进行 5'端快速扩增。加样量及步骤如下:模板 5 μ L, P6 2 μ L, QT 2 μ L, dNTP 2 μ L, DMSO 5 μ L, Taq 酶缓冲液 5 μ L, 加双蒸水 27 μ L, 混匀后于 98℃ 变性 5 min;热循环仪温度降至 72℃ 时加入 Taq 酶 2 μ L。然后进入 PCR 循环:预变性 94℃ 2 min, 变性 94℃ 30 s, 退火与延伸 68℃ 2 min, 30 个循环,最后 72℃ 延伸 10 min, 于 4℃ 保存。PCR 产物经 0.8% 琼脂糖凝胶电泳分离,玻璃奶回收后与 pMD-18T 载体连接,转化大肠杆菌 DH5 α , 挑选阳性克隆测序。

1.3 序列分析

采用 Bioedit 软件寻找 5'非编码区和 ORF。利用 DNASIS MAX 搜寻 5'非编码区的 ATG 及小顺反子。利用 Clustal W 对 EoPV 和哺乳动物小 RNA 病毒的 5'非编码区序列进行列阵比较。利用 mfold 软件在线预测 EoPV 5'非编码区的二级结构,利用 RnaViz 2.0 对结果进行编辑。所涉及的小 RNA 病毒基因组序列均来自于 GenBank:脊髓灰质炎病毒(PV, V01149)、口蹄疫病毒(FMDV, AF189157)、脑心肌炎病毒(EMCV, X87335)、甲肝病毒(HAV, M14707)、人鼻病毒(HRV, D00239)、禾谷缢管蚜病毒(RhPV, AF022937)、大豆尺蠖病毒(PSIV, AB006531)、蟋蟀瘿病毒(C₁PV, AF218039)、家蚕软化病毒(IFV, AB000906)、蜜蜂囊雏病毒(SBV, AF092924)和榕透翅毒蛾小 RNA 病毒(PnPV, AF323747)。

2 结果与分析

2.1 EoPV 5'RACE 结果与 5'非编码区核苷酸序列

依据小 RNA 病毒 5'非编码区有复杂二级结构的特点,设计反向引物 P6 长 23 bp,理论温度高达 74℃。对传统的 5'RACE 进行革新,提高退火温度达 68℃,采用两步 PCR 扩增 5'端,得到了如图 1 所示的特异带。克隆测序后,与基因组其他克隆序列

拼接,得到完整的基因组序列。

基因组全长 9 394 bp (GenBank 注册号: AY365064),比哺乳动物小 RNA 病毒基因组(7.2 ~ 8.5 kb)大。利用 Bioedit 搜寻到一个大的开放阅读框,起始密码子位于 391 bp(图 2, ATGATG)。EoPV 5'端非编码区为 1 ~ 390 bp,比哺乳动物小 RNA 病毒(620 ~ 1 200 bp)短,与哺乳动物相似,该区富含 AT 碱基, A + T 含量高达 66%。EoPV 的非编码区内有 5 个 ATG 及相应的 5 个小顺反子(图 2)。哺乳动物小 RNA 病毒真正起始密码子 ATG 上游一般有 8 ~ 11 个 ATG 及相应的小顺反子。

```

1   CTTTTCAGCA ACGGOGGTAT TGAGTAATCT CTTAAGATTA TTTAATACGT GTTCTTACAT
61  TTAAATTCAA ATAGTTAAGA TTTAATTAGG ATTAATTACC GATATTGFAA TCTTCTATTA
121 TTTTATCGGT TTGAATCTOC CTTACACATA TGATTATGTA GGTGCITAT TAGTAGTAGA
181 TACATCTAAA TTCTACAAOG ACCTAATAAG TTTTGATTAT ATAAGATAGG ATGGAAGGC
241 TCCGATTTGT GAATAGGTTT TTATATTGGA AGTAGGTAGT ATTGCGCATA CTATTAATTC
301 CACAATACGT GGTCTTGGTC TTAGCAAATT TACCTTTCGT CCCTATGGAA ATGGCTCTTC
361 GGAOCTGAGT ACAGTGGGAC AACCCCAACG ATGATGACGA CCCAAACAAA CCAACTATT
  
```

图 2 茶尺蠖小 RNA 病毒 5'端非编码区核苷酸序列

Fig. 2 The untranslation region of EoPV 5'terminus

2.2 EoPV 与哺乳动物小 RNA 病毒 5'非编码区核苷酸序列比较

哺乳动物小 RNA 病毒基因组仅 7.2 ~ 8.5 kb,但 5'端非编码区却长达 620 ~ 1 200 bp;昆虫小 RNA 病毒基因组长 8.7 ~ 10 kb,但 5'非编码区较短,一般长 474 ~ 799 bp,尤其是 IFV 仅有 157 bp,SBV 仅有 179 bp。EoPV 5'非编码区比 IFV 和 SBV 长 2 倍多,但比哺乳动物及其他昆虫小 RNA 病毒短得多,与丙肝(HCV,慢病毒)5'非编码区长度(341 bp)相似。尽管不同小 RNA 病毒 5'非编码区长短不一,但是都可以充当 IRES,起始蛋白质翻译。BLAST 分析表明,EoPV 基因组与其他小 RNA 病毒核苷酸序列无同源性(PnPV 除外),但利用 Clustal W 列阵比较 EoPV 与哺乳动物及某些昆虫的 5'非编码区表明,大多数小 RNA 病毒 5'非编码区存在约 300 bp 的保守序列,且保守区以 G 和 A 为主(图 3)。其中,EoPV 30 ~ 335 nt 与 PV 152 ~ 453 nt(茎环-III 和 IV)和 EMCV 332 ~ 615 nt(茎环-H 和 I)保守性最高,该区域是哺乳动物小 RNA 病毒两种 IRES 的核心区域,与核糖体的进入和翻译效率密切相关(Stewart and Semler, 1997)。该区域以外序列,仅存在个别碱基的保守性。

2.3 EoPV 5'非编码区二级结构与哺乳动物 IRES 结构的比较

利用 mfold 软件在线预测 EoPV 5'非编码区的二

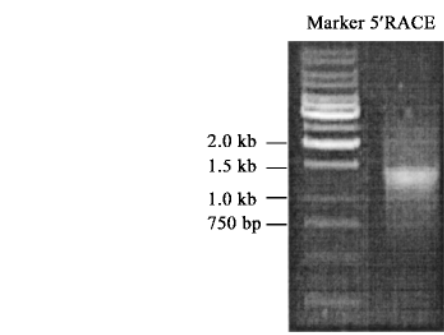


图 1 茶尺蠖小 RNA 病毒的 5'RACE 产物鉴定

Fig. 1 Determination of EoPV 5'RACE product on 1% agarose gel

级结构,利用 Rnavis2.0 对结果进行编辑(如图 4 所示)。EoPV 5'非编码区有 4 个主要的茎环结构,二级结构比脊髓灰质炎病毒和脑心肌炎病毒简单,与丙肝病毒相似(图 5)。将 EoPV 5'非编码区的二级结构与哺乳动物病毒内部核糖体进入位点进行比较,发现茎环-III 与 I 型核糖体进入位点(PV)茎环-IV 和 II 型核糖体进入位点(EMCV)茎环-I 及丙肝病毒核糖体进入位点的茎环-III 相似,具有较复杂的结构,而且与起始密码子距离较近。此外,EoPV 5'非编码区的二级结构含有 I 和 II 型核糖体进入位点的保守区,即富含 A/C 碱基的环 B(loop B)和保守基序 GNRA(stem-loop A, N 为任一碱基,R 为嘧啶),在起始密码子 ATG 上游有多聚嘧啶区(polyC-rich tract)。与脑心肌炎和丙肝病毒相似,EoPV 起始密码子 ATG 距离茎环结构(IRES)较近。

3 讨论

细胞 mRNA 5'端有帽子结构(m^7 GTP),非编码区短而无结构,因而一般设计嵌套引物进行 5'端快速扩增,得到 5'端 cDNA,再克隆测序,一般的 5'RACE 试剂盒生产厂家也如此说明。由于小 RNA 病毒 5'端非编码区长而且又有复杂的二级结构,采用常规的 5'RACE 方法,始终没有得到特异核酸带。因此,

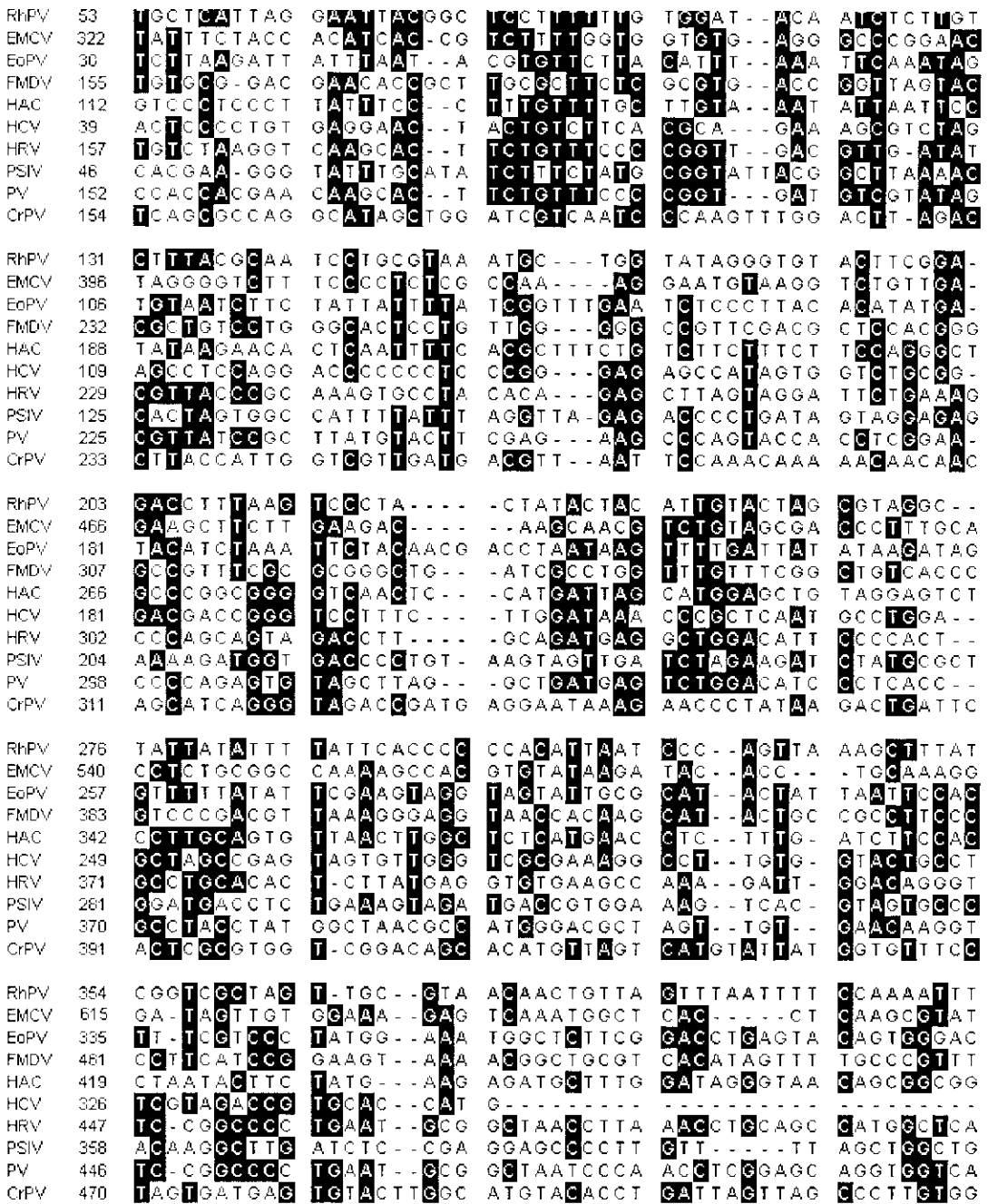


图3 茶尺蠖小 RNA 病毒与哺乳动物及昆虫小 RNA 病毒 5'非编码区列阵比较

Fig. 3 Alignment of 5'UTR among EoPV, mammalian picornaviruses and insect picornaviruses

EoPV 与哺乳动物及某些昆虫病毒的 5'非编码区存在约 300 bp 的保守序列,且保守区以 G 和 A 为主 There is about 300 bp consensus sequence with purine G and A in majority. RhPV: 禾谷缢管蚜病毒; EMCV: 脑心肌炎病毒; EoPV: 茶尺蠖小 RNA 病毒; FMDV: 口蹄疫病毒; HAC: 甲肝病毒; HCV: 丙肝病毒; HRV: 人鼻病毒; PSIV: 大豆尺蠖病毒; PV: 脊髓灰质炎病毒; CPV: 蟋蟀瘰病毒.

我们通过(1)加长反向引物长度,提高引物特异性;(2)提高退火温度,增加引物特异性和(3)将退火和延伸两步合并为一步 3 个措施,扩增得到了如图 1 所示的特异核酸带。该电泳图仍有背景核酸,是因为:(1)P6 非特异起始,利用 Primer 4.0 分析,P6 有

错误起始位点,但它是 EoPV 基因组 5'端特异性最好的一个引物;(2)基因组 RNA 有部分降解,产生了小分子扩增产物。

EoPV 有较长的 5'端非编码区(390 nt),核酸序列与哺乳动物小 RNA 病毒及 CPV、RhPV 5'端非编

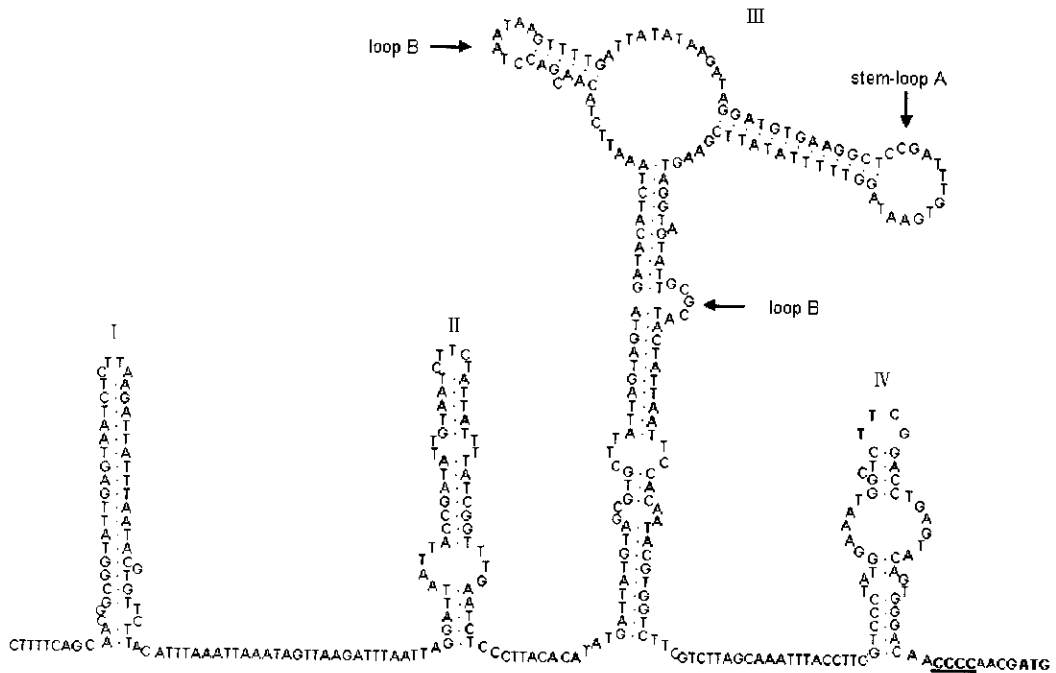


图 4 茶尺蠖小 RNA 病毒 5'端非编码区二级结构预测

Fig. 4 Predicted secondary structure of the EoPV 5'UTR

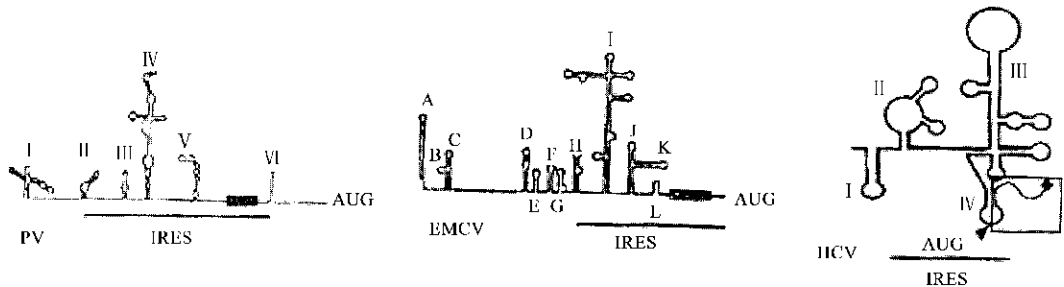


图 5 脊髓灰质炎病毒(PV)、脑心肌炎病毒(EMCV)和丙肝病毒(HCV) 5' UTR 二级结构及 IRES 的预测(仿 Gale *et al.*, 2000)

Fig. 5 Predicted RNA secondary structure of poliovirus (PV), encephalomyocarditis virus (EMCV) and hepatitis C (HCV) 5'UTRs and their IRESs (Adapted from Gale *et al.*, 2000)

码区具有相似的特点,即 A + T 含量丰富,在基因组起始密码子上游有多个 ATG 及小的顺反子,因而基因组翻译不可能采取依赖于帽子的核糖体扫描机制,因为核糖体无法克服 5'端复杂的二级结构,也无法忽略隐藏在起始密码子上游的多个 ATG,故只能采用内部核糖体进入位点机制起始翻译。利用 mfold 软件对 EoPV 5'端非编码区的二级结构的预测表明,EoPV 与丙肝病毒 5'端非编码区长短及茎环数相似;其 5'端非编码区比哺乳动物小 RNA 病毒短,茎环数也较少。但它含有哺乳动物小 RNA 病毒 I 型和 II 型核糖体进入位点的某些保守结构,如 stem-loop A 和 loop B 及多聚嘧啶区。这些区域或与宿主蛋白因子结合,或稳定内部核糖体进入位点的茎环

结构,是内部核糖体进入位点翻译起始所必须的 (Stewart and Semler, 1997)。

自从 1988 年发现哺乳动物小 RNA 病毒基因组翻译起始采用内部核糖体进入位点机制以来,不仅发现慢病毒(HCV)和瘟病毒(猪瘟疫病毒)利用该机制起始翻译,还发现细胞 mRNA 如热击蛋白和免疫球蛋白重链也存在这种机制,最近研究证明 CrPV、RhPV 利用内部核糖体进入位点机制起始翻译。内部核糖体进入位点不仅与病毒的翻译起始密切相关,而且也与病毒复制、毒力及组织趋性有关。例如脊髓灰质炎疫苗株 Sabin 与野生株相比,472 ~ 481 nt (内部核糖体进入位点茎环-VI)碱基变异,导致其在神经组织和神经母细胞中丧失复制能力,无神经毒

性,但能在肠中复制。polyC 的长短影响心肌炎和口蹄疫病毒的毒力。目前发现哺乳动物小 RNA 病毒的 IRES 作为蛋白质翻译的顺式元件仅在哺乳动物细胞系起作用,而禾谷缢管蚜病毒 5' 端非编码区的 IRES 可以在动植物和昆虫细胞系中有效起始蛋白质翻译,为通过基因工程生产有经济价值的蛋白质提供广阔的前景。EoPV 是我国首次从野生昆虫中发现并完成基因组测序的小 RNA 病毒,借助计算机预测其 5' 端非编码区的二级结构,对于采用酶法确定其内部核糖体进入位点的结构,进一步通过构建真核表达载体,研究它在动植物和昆虫细胞系中的翻译活性,具有重要的理论和实践意义。

参考文献 (References)

- Gale MJr, Tan SL, Katze MG, 2000. Translational control of viral gene expression in eukaryotes. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 64(2): 239 - 280.
- Jackson RJ, Hunt SL, Gibbs CL, Kaminski A, 1994. Internal initiation of translation of picornavirus RNAs. *Mol. Bio. Rep.*, 19: 147 - 159.
- Jan E, Samow P, 2002. Factorless ribosome assembly on the internal ribosome entry site of cricket paralysis virus. *J. Mol. Bio.*, 324: 889 - 902.
- Kathryn EW, Konstantions L, Graham JB, Michael JC, Lisa OR, 2001. The 5' untranslated region of *Rhopalosiphum padi* virus contains an internal ribosome entry site which functions efficiently in mammalian, plant, and insect translation systems. *Journal of Virology*, 75(21): 10 244 - 10 249.
- Lai GH, Tang ZY, Wang KM, Qian GX, Chen SS, 1997. Antitumor study of human tumor necrosis factor alpha gene modified fibroblasts. *Chin. J. Cancer Biother.*, 4(1): 43 - 46. [赖冠华,唐展云,王克敏,钱关祥,陈诗书, 1997. 人 TNF- α 基因修饰成纤维细胞的抗肿瘤研究. 中国肿瘤生物治疗杂志, 4(1): 43 - 46]
- Licht T, Herrmann F, Gottesman MM, 1997. *In vivo* drug selectable gene: a new concept in gene therapy. *Stem Cells*, 15: 103 - 111.
- Morgan RA, Couture L, Elroy-Stein O, 1992. Retroviral vector containing putative internal ribosome entry sites: development of polycistronic gene transfer system and applications to human gene therapy. *Nucleic Acids Research*, 20: 1 293 - 1 299.
- Nishiyama T, Yamamoto H, Shibuya N, Hatakeyama Y, Hachimori A, Uchiyumi T, Nakashima N, 2003. Structural elements in the internal ribosome entry site of *Plautia stali* intestine virus responsible for binding with ribosomes. *Nucleic Acids Research*, 31(9): 2 434 - 2 442.
- Pelletier J, Kaplan G, Racaniello VR, Sonenberg N, 1988. Cap-independent translation of poliovirus mRNA is conferred by sequence elements within 5' noncoding region. *Molecular and Cellular Biology*, 8(3): 1 103 - 1 112.
- Sasaki J, Nakashima N, 1999. Translation initiation at the CUU codon is mediated by the internal ribosome entry site of an insect picorna-like virus *in vitro*. *Journal of Virology*, 73(2): 1 219 - 1 226.
- Stewart ST, Semler BT, 1997. RNA determinants of picornavirus cap-independent translation initiation. *Virology*, 8: 242 - 255.
- Toyoda H, Kohara M, Kataoka Y, Suganuma T, Omata T, Imura N, Nomoto A, 1984. Complete nucleotide sequence of all three poliovirus serotype genomes. *J. Mol. Bio.*, 174: 561 - 585.
- Wang XC, Hu YY, Zhang JM, 2003. Advances in insect picornavirus research. *Acta Entomologica Sinica*, 46(5): 649 - 654. [王小纯,胡远扬,张珈敏, 2003. 昆虫小 RNA 病毒研究进展. 昆虫学报, 46(5): 649 - 654]
- Wang XC, Zhang JM, Liu CF, Yu HY, Hu YY, 2004. A new picorna-like virus, EoPV, isolated from tea loopers, *Ectropis oblique hypulina*. *Virological Sinica*, 19(1): 39 - 42. [王小纯,张珈敏,刘传凤,俞海洋,胡远扬, 2004. 从茶尺蠖中分离到一株新的小 RNA 病毒. 中国病毒学, 19(1): 39 - 42]
- Wang XC, Zhang JM, Lu J, Yi FM, Liu CF, Hu YY, 2004. Sequence analysis and genomic organization of a new insect picorna-like virus, *Ectropis obliqua* picorna-like virus, isolated from *Ectropis obliqua*. *Journal of General Virology*, 85(5): 1 145 - 1 151.
- Willson JE, Powell MJ, Hoover SE, Samow P, 2000. Naturally occurring dicistronic cricket paralysis virus RNA is regulated by two internal ribosome entry site. *Molecular and Cellular Biology*, 20(14): 4 990 - 4 999.
- Willson JE, Pestova TV, Hillen CUT, Samow P, 2000. Initiation of protein synthesis from the A site of the ribosome. *Cell*, 102: 511 - 520.
- Zhang WP, Cao XT, 1998. The construction and application of adenovirus vector coexpressing the heterodimer of human IL-12. *Journal of Chinese Medicine*, 78(1): 33 - 36. [章卫平,曹雪涛, 1998. 双亚基共表达人白细胞介素 12 重组腺病毒载体的构建与应用. 中华医学杂志, 78(1): 33 - 36]

(责任编辑:黄玲巧)