PO Box 2345 Beijing 100023, China
Fax: +86-10-85381893
Email: wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

World Chin J Digestol 2004 July;12(7):1569-1573
世界华人消化杂志 ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R
2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

HBV 前 - S1 蛋白结合蛋白大鼠同源基因的克隆化

成 军, 董 菁, 张 健, 王建军, 纪 冬, 刘 妍, 钟彦伟, 王 琳

成军, 董菁, 张健, 王建军, 纪冬, 刘妍, 钟彦伟, 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
成军, 男, 1963-08-17 生, 山东省淄博市人, 汉族. 1994 年北京医科大学传染病学博士, 1994年美国得克萨斯大学健康科学中心临床免疫与传染病科博士后. 教授, 主任医师, 博士生导师, 出版专著 5 部, 发表论文 400 篇. 中华医学会传染病与寄生虫病学分会副主任委员.
国家自然科学基金攻关项目, No. C03011402, No. C30070689, No. C39970674, No. C30371288
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
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: 2004-02-14 接受日期: 2004-05-11

Identification and analysis of rat homologous gene to human HBV pre-S1 protein-binding protein

Jun Cheng, Jing Dong, Jian Zhang, Jian-Jun Wang, Dong Ji, Yan Liu, Yan-Wei Zhong, Lin Wang

Jun Cheng, Jing Dong, Jian Zhang, Jian-Jun Wang, Dong Ji, Yan Liu, Yan-Wei Zhong, Lin Wang, Gene Therapy Research Center, Institute of Infectious Diseases, The 302 Hospital of Chinese PLA, Beijing 100039, China
Supported by National Natural Science Foundation of China, No. C03011402, No. C30070689, No. C39970674, No. C30371288 and Returned Scholarship of General Logistics Department of PLA, No. 98H038
Correspondence to: Dr. Jun Cheng, Gene Therapy Research Center, Institute of Infectious Diseases, the 302 Hospital of Chinese PLA, 100 Xisihuanzhong Road, Beijing 100039, China. cj@genetherapy.com.cn
Received: 2004-02-14 Accepted: 2004-05-11

Abstract

AIM: To identify and analyze rat homologous gene to human hepatitis B virus (HBV) pre-S1-binding protein (PS1BP) coding gene.

METHODS: The human PS1BP was screened and identified from a hepatocyte expressive cDNA library by phage display technique with purified recombinant pre-S1 protein of HBV as the solidified matrix. The nucleotide sequence database GenBank, established by National Center for Biotechnology Information (NCBI), National Library of Medicine (NLM), National Institute of Health (NIH), was searched for rat cDNA sequence homologous to human PS1BP cDNA by BLASTn tools online. A homologous cDNA sequence was identified as the rat PS1BP cDNA. The similarity and identity of rat PS1BP cDNA and amino acid (aa) sequences to human and mouse PS1BP genes were compared. The potential functional domains were predicted by online analysis tools.

RESULTS: The human PS1BP cDNA was identified by phage display technique. The rat PS1BP cDNA was identified by bioinformatics methods. The rat PS1BP cDNA consisted of 1 455 nt, and encoded a protein of 484 aa. The identity of rat PS1BP protein to human and mouse PS1BP proteins was 80.79% (391/484) and 92.98% (450/484), respectively. In the rat PS1BP protein sequence, several potential modification domains were identified.

CONCLUSION: Rat PS1BP cDNA and protein primary sequences are identified and analyzed.

Cheng J, Dong J, Zhang J, Wang JJ, Ji D, Liu Y, Zhong YW, Wang L. Identification and analysis of rat homologous gene to human HBV pre-S1 protein-binding protein. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2004;12(7):1569-1573

摘要

目的: 利用生物信息学(bioinformatics)技术克隆，鉴定人HBsAg前-S1蛋白结合蛋白(PS1BP)编码基因的同源基因.

方法: 人PS1BP由表达型cDNA文库的噬菌体展示技术筛选获得. 以人的PS1BP的cDNA序列作为参照，对于美国国立卫生研究院(NIH)国立医学图书馆(NLM)生物工程信息学研究中心(NCBI)建立的核苷酸序列数据库GenBank，利用同源基因序列比对的在线分析软件BLASTn进行同源基因序列的比对，发现新的来源于大鼠的同源基因. 确定大鼠PS1BP的cDNA序列之后，对于大鼠PS1BP蛋白质一级结构序列与人和小鼠的PS1BP蛋白质一级结构序列的同源性进行分析. 利用在线分析软件，对于大鼠PS1BP一级结构序列中潜在的修饰和功能位点进行初步的预测分析.

结果: 利用噬菌体展示技术获得了人的PS1BP的cDNA序列. 以生物信息学技术确定了大鼠PS1BP的cDNA及其编码产物的序列. 大鼠PS1BP的cDNA由1 455 nt组成，编码产物由484 aa组成. 大鼠PS1BP蛋白质一级结构与人和小鼠PS1BP蛋白质一级结构的同源性分别为80.79%(391/484)和92.98%(450/484). 利用在线分析软件，在大鼠PS1BP蛋白质一级结构中还发现了一系列潜在的蛋白质修饰结构位点.

结论: 大鼠PS1BP基因及其编码产物序列被确定.

成军, 董菁, 张健, 王建军, 纪冬, 刘妍, 钟彦伟, 王琳. HBV 前 - S1 蛋白结合蛋白大鼠同源基因的克隆化. 世界华人消化杂志 2004;12(7):1569-1573
http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1569.asp

0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)的包膜蛋白由表面抗原(HBsAg)基因编码，因为HBsAg编码基因存在着2段启动子调节序列，而且在基因序列中存在3个串连的框架内(in

frame)翻译起始密码子，因此，HBsAg基因可以从不同的起始密码子开始翻译，在同一个终止密码子处终止翻译过程，构成不同长度的HBsAg[1-3]. 从第1个起始密码子开始翻译的蛋白是HBsAg的大蛋白，从中间的起始密码子开始翻译的蛋白是HBsAg的中蛋白，从最下游的起始密码子开始翻译的蛋白是HBsAg的主蛋白. 上游和中间起始密码子之间的序列成为前-S1(pre-S1)区，一般由108个氨基酸残基(aa)组成. 关于HBsAg的前-S1区的具体功能，虽然进行了较长时间的研究，但是还有许多方面不清楚.我们利用cDNA文库的噬菌体展示技术，筛选到了一种新的前-S1结合蛋白(pre-S1-binding protein，PS1BP)[4]，再利用生物信息学技术克隆，鉴定了大鼠的PS1BP基因，并进行初步分析.

1 材料和方法

利用表达型cDNA文库的噬菌体展示技术的筛选，获得了人PS1BP的编码基因序列[4-5]. 以人的PS1BP的cDNA序列作为参照，对于美国国立卫生研究院(NIH)国立医学图书馆(NLM)生物工程信息学研究中心(NCBI)建立的核苷酸序列数据库GenBank，利用同源基因序列比对的在线分析软件BLASTn进行同源基因序列的比对，发现新的来源于大鼠的同源基因. 确定大鼠PS1BP的cDNA序列之后，对于大鼠PS1BP蛋白质一级结构序列与人和小鼠的PS1BP蛋白质一级结构序列的同源性进行分析. 利用在线分析软件，对于大鼠PS1BP一级结构序列中潜在的修饰和功能位点进行初步的预测分析.

2 结果

利用噬菌体展示技术从cDNA文库中筛选得到的人PS1BP基因由1 437 nt组成，编码产物由478 aa组成[4]. 利用生物信息学技术克隆，鉴定的大鼠PS1BP的基因由1 455 nt组成，编码产物由484 aa组成(图1).大鼠PS1BP基因序列被美国核苷酸序列数据库GenBank收录，收录号为AY535002.大鼠与人的同源性为80.79%(391/484)，大鼠和小鼠的同源性为92.98%(450/484)(图2).

```
ATGGCTGCGGGTAGTAACAGAGGCGGTGATAAGCGCGGCTCGAAA
 M  A  A  G  S  N  R  G  G  D  K  R  G  S  K
AGCCAGGCGGACTCTAACTTTCTGGGGCTGCGGCCCACCTCGGTG
 S  Q  A  D  S  N  F  L  G  L  R  P  T  S  V
GATCCCGCTCTGAGGCGGCGGCGGCGGGGCCCCAGAAACAAGAAG
 D  P  A  L  R  R  R  R  R  G  P  R  N  K  K
CGCGGCTGGAGGAGGCTCGCTGAGGAGCCGCTGGGGCTAGAGGTA
 R  G  W  R  R  L  A  E  E  P  L  G  L  E  V
GACCAGTTCCTGGAAGATGTACGGCTACAAGAGCGCACGACCGGT
 D  Q  F  L  E  D  V  R  L  Q  E  R  T  T  G
GGCTTGTTGGCAGAGGCCCCAAATGAACAGCTCTTCTTCGTGGAC
 G  L  L  A  E  A  P  N  E  Q  L  F  F  V  D
ACTGGACTCAAGAAAAAAGAACCACGCAAGAAGAGGACCTGGGTC
 T  G  L  K  K  K  E  P  R  K  K  R  T  W  V
CAGAAGAAGTCAAAGCATCTCCAGAAACCCCTACGGGTTGACCTT
 Q  K  K  S  K  H  L  Q  K  P  L  R  V  D  L
GCCCTTGAGAATCATTCTAAGATCCCTGCTCCCAAAGACATCCTT
 A  L  E  N  H  S  K  I  P  A  P  K  D  I  L
GCACACCAGGTCCCCAATGCCAAAAAGCTCAGGCGAAAGGAGGAG
 A  H  Q  V  P  N  A  K  K  L  R  R  K  E  E
CTATGGGAGAAACTGGCAAAGCAGGGAGAGCTGCCCAGGGATGTG
 L  W  E  K  L  A  K  Q  G  E  L  P  R  D  V
CGCAAGGCACAGGCCCGGCTTCTTAACCCTCCTGCACCAAAGGCC
 R  K  A  Q  A  R  L  L  N  P  P  A  P  K  A
AAACCTGGGCCCCAGGATATCATTGAGCGGCCCTTCTATGACCTC
 K  P  G  P  Q  D  I  I  E  R  P  F  Y  D  L
TGGAACCCAAACAATCCTCTGGATAAGCCTTTGATCGGTCAGGAT
 W  N  P  N  N  P  L  D  K  P  L  I  G  Q  D
GCATTTTTTCTGGAGCAGACCAAGAAGAAAGGTGTGAGGCGGCCA
 A  F  F  L  E  Q  T  K  K  K  G  V  R  R  P
CCACGACTCCACATCAAGCCTTCCCAGGTGCCTGCGGTGGAAGTG
 P  R  L  H  I  K  P  S  Q  V  P  A  V  E  V
ATTCCTGCGGGAGCCTCCTACAACCCAACCTTTGAAGATCACCAG
 I  P  A  G  A  S  Y  N  P  T  F  E  D  H  Q
GCCTTGCTTCTAGAGGCCCATGAGGTGGAGCTGCAGCGTGAGAAA
 A  L  L  L  E  A  H  E  V  E  L  Q  R  E  K
GAGGCAGAAAAGCTGGAGCGACAGCTGGCCCTGCCCACTGCAGAG
 E  A  E  K  L  E  R  Q  L  A  L  P  T  A  E
CAAGCTGCTACCCAGGAGTCCGTGTTTCGGGAGATGTGTGAGGGC
 Q  A  A  T  Q  E  S  V  F  R  E  M  C  E  G
CTGCTCGAAGAGTCTGAGGATGAGGATGGGCCAGGCTGTGCTGAG
 L  L  E  E  S  E  D  E  D  G  P  G  C  A  E
CAGCCAGAGGCTGACGATGGGGCCACTGAGACCTCACCCACTGGT
 Q  P  E  A  D  D  G  A  T  E  T  S  P  T  G
GCTGCTGGTCCTGAGAAGAGGATGGAGAAGAAGACAGAGCAGCAG
 A  A  G  P  E  K  R  M  E  K  K  T  E  Q  Q
CGGCGGCGGGAGAAGGCTGCTCGCAAGCTGCGGGTGCAGCAGGCT
 R  R  R  E  K  A  A  R  K  L  R  V  Q  Q  A
GCACTGAGGGCAGCCCGGCTTCAGCACCAAGAACTCTTCAGGCTA
 A  L  R  A  A  R  L  Q  H  Q  E  L  F  R  L
CGTGGGATCAAGGCCCAGGTGGCCCGGAGGCTGGCAGAGCTGGCA
 R  G  I  K  A  Q  V  A  R  R  L  A  E  L  A
CGCCGGAAGGAGCAGCGGCGCATACGGCGACTGGCAGAGGCTGAC
 R  R  K  E  Q  R  R  I  R  R  L  A  E  A  D
AAACCCCGAAGGCTGGGACGGCTCAAGTACCAGGCCCCTGACATT
 K  P  R  R  L  G  R  L  K  Y  Q  A  P  D  I
GATGTGCAGCTCAGCTCTGAGCTATCTGACTCACTCAGGAAACTG
 D  V  Q  L  S  S  E  L  S  D  S  L  R  K  L
AAGCCAGAAGGTAACATTCTCCGAGACAGGTTCAAAAGCTTCCAG
 K  P  E  G  N  I  L  R  D  R  F  K  S  F  Q
AAGAGAAATATGATTGAGCCCCGGGAACGAGCCAAGTTCAAGCGC
 K  R  N  M  I  E  P  R  E  R  A  K  F  K  R
AAATACAAAGTGAAGCTGGTGGAGAAGCGGGCTTTCCGCGAGATT
 K  Y  K  V  K  L  V  E  K  R  A  F  R  E  I
CAGTTGTAG
 Q  L  *
```

图1 乙型肝炎病毒前-S1蛋白结合蛋白大鼠同源基因及其编码产物序列.

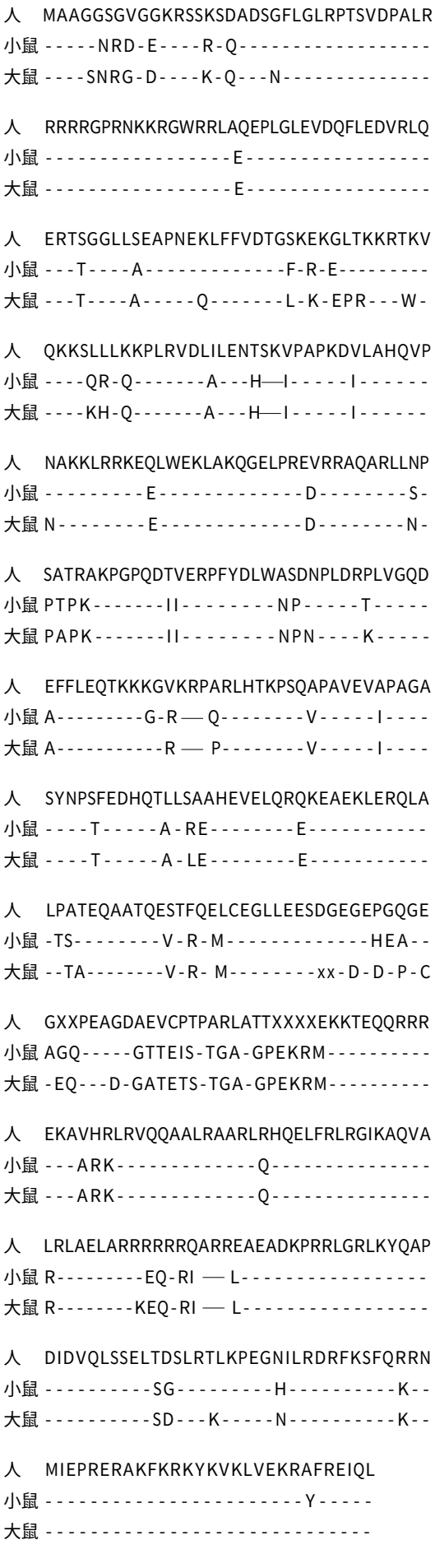

图 2 人和小鼠乙型肝炎病毒前 -S1 蛋白结合蛋白一级结构序列同源性比较.

对于大鼠乙型肝炎病毒前-S1蛋白结合蛋白一级结构序列生物信息学分析，发现一系列潜在的蛋白修饰位点结构域.例如1个潜在的N-糖基化位点124-127 aa (NHSK); 2个潜在的cAMP，cGMP依赖性蛋白激酶磷酸化位点11-14 aa (KRgS)，100-103 aa(KKrT); 3个潜在的蛋白激酶C(PKC)磷酸化位点5-7 aa(SnR)，217-219 aa (TkK)，431-433 aa(SlR); 4个潜在的酪蛋白激酶II磷酸化位点6-19 aa(SqaD)，28-31 aa(TsvD)，250-253 aa (TfeD)，305-308 aa(SedE); 4个潜在的N-豆蔻酯酸化修饰位点4-9 aa(GSnrGG)，24-29 aa(GLrpTS)，75-80 aa (GGllAE)，322-327 aa(GAteTS); 6段双向核靶向序列 94-110 aa(KKkeprkkrtwvqkksk)，95-111 aa(KKeprkkrtwvqkkskh)，340-356 aa(Kteqqr rrekaarklr)，384-400 aa (RRlaelarrkeqrrirr)，396-412 aa(RRirrlaeadkprrlgr)，451-467aa(KRnmieprerakfkrky); 2段富含精氨酸序列35-50 aa (RrrrrgprnkkrgwrR)，346-412 aa(Rrrekaarklrvqqaalraarlqhqelfrlrgikaqvarrlaelarrkeqrrirrlaeadkprr lgR); 1段富含谷氨酸序列 260-318 aa(Eahevelqrekeaeklerqlalptaeqaatqesvfremceglleesededgpgc aeqpE).

3 讨论

研究蛋白-蛋白之间的相互作用是分子生物学中的一个重要的研究内容[6-10]. 病毒性肝炎的发病机制，在很大程度上也取决于肝炎病毒蛋白-肝细胞蛋白之间相互结合和相互作用[11-16]. 研究蛋白-蛋白相互结合的分子生物学技术很多，主要包括酵母双杂交技术[17-20]、体外免疫共沉淀技术等. 近年来，随着噬菌体展示技术的不断成熟，噬菌体cDNA表达型文库的构建和应用，也逐渐发展成为研究蛋白-蛋白之间相互作用的重要的分子生物学技术[21-30]. 与酵母双杂交技术一样，噬菌体展示技术不仅可以研究已知蛋白之间的结合，而且由于是一种cDNA文库的筛选技术，因此可能会筛选到以前没有发现有相互作用的新的蛋白类型. 由于目前的功能基因还没有鉴定完毕，因此，利用这一策略也可以克隆到新基因.我们应用cDNA文库的噬菌体展示技术，以重组纯化的前-S1蛋白作为固相筛选基质，经过5轮的“黏附-洗脱-扩增”的所谓的“淘洗”过程，从T7噬菌体cDNA文库中筛选得到了能够与前-S1蛋白结合的克隆[4-5]. 对于插入片段的基因序列进行测定，结果表明，HBV的前-S1蛋白可以结合一种未知功能的蛋白，我们命名为PS1BP[4]. 我们曾经应用cDNA表达型文库的噬菌体展示技术，筛选到一系列的蛋白结合蛋白. 不仅如此，我们通过聚合酶链反应(PCR)引物探针的生物素化修饰，结合链亲和素(streptavidin)的固相包被技术，巧妙地将PCR扩增产物的一端固定在免疫酶联板上，建立了筛选基因启动子DNA结合蛋白的技术系统，并取得了满意的结果[24-25]. 噬菌体展示技术的出现和早期应用，主要是用于单链可变区抗体的基因工程抗体研究，之后又构建了随机多肽库，包括7肽

库和 12 肽库，随后又出现了表达型 cDNA 文库，进一步扩大了噬菌体展示技术的应用范围.结果表明，噬菌体展示技术在蛋白结合蛋白、基因启动子 DNA 结合蛋白的筛选研究中也具有重要的应用前景.我们首先利用表达型 cDNA 文库的噬菌体展示技术，以纯化的重组前 -S1 蛋白作为固相化基质，筛选得到了前 -S1 蛋白的结合蛋白新基因，即人的 PS1BP，再利用生物信息学技术[31-43]，经过核苷酸序列同源性的比对，克隆了大鼠的 PS1BP，从而为研究不同生物种属的 PS1BP 蛋白的结构与功能奠定了基础.说明分子生物学研究领域，生物信息学技术的发展和应用已经进入到了一个新阶段.

PS1BP 蛋白是一种功能目前还不十分清楚的蛋白质，在核苷酸数据库的比对中，我们筛选得到的PS1BP与神经胶质瘤抑制基因区候选基因 2(GLTSCR2)是同一基因. Smith et al [44]在研究神经胶质瘤的过程中，发现第 19 号染色体有一段 150 kb 的缺失区，因而推测这一区域存在肿瘤抑制基因. 对于这一区域的基因序列进行测定和分析，可推断有 2 个肿瘤抑制基因候选基因，其中包括 GLTSCR2．说明我们发现的 PS1BP，即 GLTSCR2 可能是潜在的一种肿瘤抑制基因类型. 但是，这一推测只是基于核苷酸序列的生物信息学分析，还没有得到进一步的证实，GLTSCR2 基因的编码序列甚至是一种生物信息学的推断，究竟是否存在这样的编码基因都不一定[45-51]. 我们的筛选结果是一种表达型 cDNA 文库的筛选结果，因此至少可以肯定 PS1BP/GLTSCR2 是一种具有表达和编码功能的基因，因此在原来的基础上又进了一步.从大鼠的PS1BP/GLTSCR2基因克隆化结果来看，大鼠与人的同源性为 80.79%(391/484)，大鼠和小鼠的同源性为 92.98%(450/484)，说明这种基因的序列高度保守，推测具有重要的生物学功能. 利用 Northern blot 杂交技术证实，在心脏、胰腺中 PS1BP/GLTSCR2 基因有很高水平的表达，肝脏、骨骼肌、肾脏中有中等水平的表达，脑、肺组织中的表达水平较低. 这些研究结果表明，PS1BP/GLTSCR2 基因的功能可能十分广泛. PS1BP/GLTSCR2 蛋白的结构与功能、表达与调控、生物学意义、医学意义，在神经胶质瘤和乙型病毒性肝炎发病机制中的作用目前我们还一无所知，还需要进行系统的研究加以证实.

4 参考文献

1 陆荫英, 陈天艳, 成军, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 李克, 张健, 邵清, 张玲霞. 乙型肝炎病毒前 -S2 蛋白结合蛋白 S2-29 新基因的克隆化研究. 世界华人消化杂志 2003;11:1114-1117

2 陆荫英, 李克, 王琳, 刘妍, 王业东, 成军, 张玲霞. 乙型肝炎病毒前 -S2 蛋白结合蛋白的筛选. 中华肝脏病杂志 2003;11:8-10

3 董菁, 施双双, 张国庆, 皇甫竞坤, 成军, 王勤环, 李莉. 乙型肝炎病毒表面抗原 / 抗体同时阳性患者体内 S 基因序列的分析研究. 中国公共卫生 2002;18:535-537

4 董菁, 王业东, 成军, 皇甫竞坤, 钟彦伟, 杨倩. 噬菌体表面展示技术筛选乙型肝炎病毒前 -S1 蛋白结合蛋白基因. 解放军医学杂志 2004;29:13-15

5 董菁, 施双双, 王业东, 皇甫竞坤, 洪源, 李莉, 张玲霞, 成军. cDNA 文库噬菌体展示法的建立及乙型肝炎病毒前 S1 蛋白结合蛋白筛检. 解放军医学杂志 2002;27:321-322

6 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

7 陆荫英, 李克, 成军, 王琳, 刘妍, 段惠娟, 张玲霞. 乙型肝炎病毒 X 基因酵母表达载体构建与表达. 世界华人消化杂志 2002;10:15-18

8 王琳, 李克, 成军, 陆荫英, 王刚, 刘妍, 钟彦伟, 段惠娟, 洪源. 筛选与克隆肝再生增强因子结合蛋白的基因. 世界华人消化杂志 2002;10:161-164

9 李克, 王琳, 成军, 陆荫英, 张玲霞, 牟劲松, 洪源, 刘妍, 段惠娟, 王刚, 李莉, 陈菊梅. 丙型肝炎病毒核心蛋白与染色体转位蛋白的相互作用. 中华医学杂志 2002;82:673-677

10 李克, 王琳, 成军, 张玲霞, 段惠娟, 陆荫英, 杨继珍, 刘妍, 邵得志, 夏小兵, 王刚, 董菁, 李莉, 钟彦伟, 洪源, 陈菊梅. 筛选与克隆丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白 6 基因. 中华实验和临床病毒学杂志 2002;16:351-354

11 成军, 李莉. 清除乙型肝炎病毒的非细胞裂解机制. 世界华人消化杂志 2002;10:73-76

12 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

13 成军, 董菁. 乙型肝炎病毒基因组结构与功能复杂性的新认识. 世界华人消化杂志 2003;11:1073-1080

14 成军. 病毒性肝炎发病机制相关基因克隆化的研究策略. 解放军医学杂志 2003;28:757-761

15 成军. 肝炎病毒与肝细胞相互作用的分子生物学机制研究策略. 中西医结合肝病杂志 2003;14:321-323

16 成军. 肝炎病毒蛋白对肝细胞基因组转录调节及信号转导机制的影响. 世界华人消化杂志 2004;12:253-257

17 王琳, 李克, 成军, 陆荫英, 张健, 刘妍, 王刚, 洪源, 王 贺, 芮莉莉. 筛选与克隆丙型肝炎病毒 NS5A 蛋白结合蛋白基因. 解放军医学杂志 2003;28:50-52

18 李克, 王琳, 成军, 张玲霞, 段惠娟, 陆荫英, 杨继珍, 刘妍, 洪源. 酵母双杂交技术筛选克隆丙型肝炎病毒 NS3 蛋白结合蛋白. 解放军医学杂志 2003;28:31-33

19 Li K, Wang L, Cheng J, Lu YY, Zhang LX, Mu JS, Hong Y, Liu Y, Duan HJ, Wang G, Li L, Chen JM. Interaction between hepatitis C virus core protein and translin protein-a possible molecular mechanism for hepatocellular carcinoma and lymphoma caused by hepatitis C virus. *World J Gastroenterol* 2003;9:300-303

20 王琳, 李克, 成军, 陆荫英, 张健, 陈天艳, 洪源, 刘妍, 王刚, 钟彦伟. 酵母双杂交技术筛选 Hcbp6 结合的肝细胞蛋白编码基因. 世界华人消化杂志 2003;11:385-388

21 钟彦伟, 成军, 陈新华, 王刚, 洪源, 王琳, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 应用噬菌体表面展示技术筛选丙型肝炎病毒 NS5A 抗原模拟表位. 世界华人消化杂志 2002;10:133-136

22 钟彦伟, 成军, 蔡炯, 王刚, 洪源, 王琳, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 丙型肝炎病毒包膜蛋白 E2 抗独特型人源化单链可变区抗体的筛选与鉴定. 世界华人消化杂志 2002;10:897-901

23 Zhong YW, Cheng J, Wang G, Shi SS, Li L, Zhang LX, Chen JM. Preparation of human single chain Fv antibody against hepatitis C virus E2 protein and its application in immunohistochemistry. *World J Gastroenterol* 2002;8:863-867

24 巨立中, 钟彦伟, 成军. 应用噬菌体展示技术筛选丙型肝炎病毒核心蛋白反式激活基因 HCTP4 启动子 DNA 的结合蛋白. 中西医结合肝病杂志 2003;14:360-362

25 巨立中, 钟彦伟, 成军. 应用噬菌体展示技术筛选丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS5A 反式激活基因 NS5ATP9 启动子 DNA 的结合蛋白. 中西医结合肝病杂志 2003;14:363-365

26 成军. 噬菌体表面展示技术的新发展及在病毒性肝炎研究中的应用. 解放军医学杂志 2004;29:4-7

27 钟彦伟, 成军, 焦成松, 张忠东, 李强, 李莉, 陈菊梅. 抗丙型肝炎病毒核心蛋白单链抗体的制备及免疫组织化学研究. 解放军医学杂志 2004;29:8-9

28 张忠东, 成军, 钟彦伟, 王业东, 董菁, 陈天艳, 杨倩, 张树林. 应用噬菌体展示技术筛选乙型肝炎病毒核心启动子结合蛋白. 解放军

医学杂志 2004;29:16-19
29 钟彦伟, 成军, 张忠东, 杨艳杰, 李强, 董菁, 刘敏, 王建军. 应用噬菌体展示技术筛选丙型肝炎病毒非结构蛋白 NS4A 结合蛋白. 解放军医学杂志 2004;29:20-22
30 杨艳杰, 成军, 陈东风, 钟彦伟, 张忠东, 李强. 应用噬菌体展示技术筛选乙型肝炎病毒表面抗原基因启动子 II 结合蛋白. 解放军医学杂志 2004;29:23-26
31 成军, 斯崇文, 王勤环. 硕大利什曼原表面蛋白 " 无鞭毛体蛋白 (amastin)" 的基因克隆化与序列分析. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 2000;18:30-32
32 成军, 钟彦伟, 刘妍, 董菁, 杨继珍, 陈菊梅. 人肝再生增强因子基因组 DNA 的克隆化与序列分析. 中华肝脏病杂志 2000;8:12-14
33 成军, 钟彦伟, 刘妍, 董菁, 杨继珍, 陈菊梅. 墨西哥利什曼原虫无鞭毛体蛋白的基因克隆化与序列分析. 中国人兽共患病杂志 2000;16:39-41
34 成军, 钟彦伟, 刘妍, 董菁, 杨继珍, 陈菊梅. 利什曼原虫无鞭毛体蛋白基因的克隆化与序列分析. 中华传染病杂志 2001;19:27-31
35 董菁, 成军, 王勤环, 皇甫竞坤, 施双双, 张国庆, 洪源, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒 DNA 序列异质性及准种特点的研究. 中华医学杂志 2002;82:81-85
36 王刚, 刘妍, 牟劲松, 洪源, 邵得志, 张耀新, 李莉, 成军. 大鼠肝再生相关基因 LRRP1 的克隆化. 世界华人消化杂志 2002;10:165-168
37 成军, 夏小兵, 王刚, 刘妍, 钟彦伟, 王琳, 杨继珍. 杜氏利什曼原虫激活蛋白激酶 C 受体的基因克隆化与序列分析. 中国人兽共患病杂志 2002;18:24-27
38 成军, 李克, 陆荫英, 王琳, 刘妍. 丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白 6 基因和蛋白的生物信息学分析. 世界华人消化杂志 2003;11:378-384
39 王琳, 李克, 成军, 张健, 梁耀东, 刘妍. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 5A 反式激活基因 11 的克隆化研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2003;12:257-259
40 杨倩, 刘妍, 成军, 王建军, 王春花, 纪冬, 党晓燕, 张树林. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 5A 反式激活基因 4 的克隆化研究. 胃肠病学和肝病学杂志 2003;12:258-250
41 成军, 董菁, 洪源, 钟彦伟, 刘妍, 王琳, 王刚. 乙型肝炎病毒中国流行株全基因的克隆与序列分析. 世界华人消化杂志 2003;11:1083-1090
42 董菁, 成军. 乙型肝炎病毒基因组中前 - 前 - S 区编码基因的界定. 世界华人消化杂志 2003;11:1091-1096
43 董菁, 成军. 乙型肝炎病毒基因组中前 - X 编码基因的界定. 世界华人消化杂志 2003;11:1097-1101
44 Smith JS, Tachibana I, Pohl U, Lee HK, Thanarajasingam U, Portier BP, Ueki K, Ramaswamy S, Billings SJ, Mohrenweiser HW, Louis DN, Jenkins RB. A transcript map of the chromosome 19q-arm glioma tumor suppressor region. *Genomics* 2000;64:44-50
45 成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 王刚, 张玲霞. 牛丙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白 6 同源基因的克隆化研究. 中国人兽共患病杂志 2003;19:73-76
46 刘妍, 成军, 王琳, 王建军, 陆荫英, 李克. 羧基末端截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活基因 1 的克隆化研究. 世界华人消化杂志 2003;11:1102-1106
47 杨倩, 董菁, 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 张树林. 乙型肝炎病毒基因组中前 - 前 - S - 编码基因启动子序列的确定及转录活性的鉴定. 解放军医学杂志 2003;28:761-762, 765
48 杨倩, 董菁, 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 王琳, 张树林. 乙型肝炎病毒基因组中前 - X - 编码基因启动子序列的确定及转录活性的鉴定. 解放军医学杂志 2003;28:763-765
49 成军. 坚持相对稳定的科研方向是关键. 世界华人消化杂志 2003;11:1857-1861
50 成军. 功能基因组学与肝脏疾病研究. 世界华人消化杂志 2004;12:1-5
51 成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟. 丙型肝炎病毒非结构蛋白 5A 结合蛋白 37 小鼠同源基因的克隆化及结构分析. 世界华人消化杂志 2004;12:291-297

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

World Journal of Gastroenterology 2005 年由半月刊改为周刊

本刊讯 为适应我国消化病学专业基础与临床研究的快速发展，以及日益增多的国际科技交流的需要，从 2005 年开始，*World Journal of Gastroenterology*（WJG）由半月刊改为周刊出版. 每月 7, 14, 21, 28 日出版, 50 元 / 期，全年 48 期，邮发代号 82-261，北京报刊发行局发行. 2002-10-11 获得国家自然科学基金重点学术期刊专项基金. 2003-01 获得第二届国家期刊奖百种重点期刊. 2003-01-15 由月刊改为半月刊. 2003-04-15 WJG（http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.asp）（http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.asp）全文电子版免费开通，截至 2004-06-15 点击次数 为 1816277. 2003-04-15 世界胃肠病学杂志社稿件处理系统开发成功，并开始使用.作者通过用户名和密码在网上查找到稿件的全部处理记录. 2004-05-06自然出版集团出版的《*Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology*》收录 WJG. 经过多项学术指标综合评定及同行多位专家评审推荐，WJG 被收录为国家科技部中国科技论文统计源期刊和中国科技核心期刊, 时间为 2004-03/2006-03. 1998-01-15 / 2004-03-01 ISI SCI 收录期刊 389 种引用 WJG 出版的论文 687 篇分布 39 个国家. 引用 WJG 的 SCI 高影响因子期刊包括自然医学 28.740 (Nature Medicine), 细胞 27.254(Cell), 自然神经科学综述 24.047(Nature Reviews Neuroscience), 自然细胞生物学 20.699(Nature Cell Biology), 基因与发育 (Genes & Development)18.772, 柳叶刀 15.397(Lancet),自然神经科学 14.857(Nature Neuroscience),神经元 13.846(Neuron),自然癌症综述 13.625(Nature Reviews Cancer), 胃肠病学 13.440(Gastroenterology), 肝脏学 9.825(Hepatology), 等国际顶级期刊. 引用 WJG 的作者分布于 687 个机构，其中包括华盛顿大学医学院（Washington Univ, Sch Med），耶鲁大学（Yale Univ），康奈尔大学（Cornell Univ），明尼苏达大学（Univ Minnesota），斯坦福大学医学中心（Stanford Univ, Ctr Med），加州大学旧金山分院（Univ Calif San Francisco），美国国立卫生研究院（National Institute of Health），伦敦帝国大学等国际著名大学或研究机构. 2004-06-11 被 CAB Abstracts, CAB Global Health 收录. （世界胃肠病学杂志 2004-06-15）