



您的位置: [首页](#)>> 文章摘要

丙型肝炎病毒非结构蛋白3的体外表达与纯化

金博, 李楠, 吴凯, 张林, 王艳梅, 翟俊山, 朱超慧, 宋久刚

100091 北京, 解放军第309医院消化内科

金博, Email: bjbo.jin@gmail.com

国家自然科学基金面上项目(30670960)

摘要: 目的 构建丙型肝炎病毒非结构蛋白3(HCV NS3)表达质粒并在大肠杆菌中表达其全长蛋白。方法 克隆3420-5312位点,插入pQE-11质粒的Bam H1限制性酶切位点,将此重组质粒转入大肠杆菌表达,用Western blot为额外拷贝的argU、ileY和1euW的tRNA基因的pACYA质粒引入HCV NS3表达系统以提高HCV NS3蛋白的表达量。收集培养用卵白溶菌酶裂解,收集含有HCV NS3重组蛋白的不溶性包涵体,将包涵体充分洗涤后,溶于含10 mmol/L二硫苏可溶性蛋白用SDS-PAGE电泳分离、洗脱,用离心过滤方法浓缩,乙醇沉淀,重复洗涤去除内毒素。结果 用此方法片段表达的重组蛋白分子量为69 kD。含有额外拷贝的argU、ileY和1euW的tRNA基因的pACYA质粒引入HCV NS3表达产率可提高10倍以上。此方法生产的NS3纯化蛋白质产量,每升培养物为40 mg。内毒素含量低于20 EU/mg NS3的免疫逃逸及感染的慢性化有密切关系,是HCV的抗病毒治疗和疫苗研究的重要靶点,全长HCV NS3蛋白的体外合用的工具。

关键词: 肝炎病毒属; 病毒非结构蛋白质类; 重组蛋白质类

[评论](#) [收藏](#) [全](#)

文献标引: 金博, 李楠, 吴凯, 张林, 王艳梅, 翟俊山, 朱超慧, 宋久刚. 丙型肝炎病毒非结构蛋白3的体外表达. 医师杂志: 电子版, 2012, 6(20):6238-6241. [复制](#)

参考文献:

- [1] Averhoff FM, Glass N, Holtzman D. Global burden of hepatitis C: considerations for providers in the United States. Clin Infect Dis, 2012, 55 Suppl 1: S10-15. :[\[PubMed\]](#)
- [2] Nelson PK, Mathers BM, Cowie B, et al. Global epidemiology of hepatitis B and hepatitis C in people who inject drugs: results of systematic reviews. Lancet, 2011, 378: 571-583. :[\[PubMed\]](#)
- [3] Matlock DL, Yeruva L, Byrd AK, et al. Investigation of translocation, DNA unwinding, and displacement by NS3h, the helicase domain from the hepatitis C virus helicase. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 397: 2109. :[\[PubMed\]](#)
- [4] Sivashanmugam A, Murray V, Cui C, et al. Practical protocols for production of viral recombinant proteins using Escherichia coli. Protein Sci, 2009, 18: 936-948. :[\[PubMed\]](#)
- [5] Castellanos-Serra L, Hardy E. Negative detection of biomolecules separated in polyacrylamide electrophoresis gels. Nat Protoc, 2006, 1: 1544-1551. :[\[PubMed\]](#)

期刊导读

6卷23期 2012年12月 [最新]



期刊存档

期刊存档

[查看目录](#)

期刊订阅



在线订阅



邮件订阅



RSS

作者中心



资质及晋升信息



作者查稿



写作技巧



投稿方式



作者指南

编委会

期刊服务



建议我们



会员服务



广告合作



继续教育

[6] Torresi J, Johnson D, Wedemeyer H. Progress in the development of preventive and therapeutic vaccines for hepatitis C virus. J Hepatol, 2011, 54:1273-1285. :[PubMed]

[7] Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, et al. ADVANCE Study Team. Telaprevir for untreated chronic hepatitis C virus infection. N Engl J Med, 2011, 364:2405-2416. :[PubMed]

[8] Poordad F, McCone J Jr, Bacon BR, et al. SPRINT-2 investigators. Boceprevir for untreated chronic hepatitis C genotype 1 infection. N Engl J Med, 2011, 364:1195-1206. :[PubMed]

[9] Jiao X, Wang RY, Feng Z, et al. DNA immunization encoding the secreted nonstructural protein 3 of hepatitis C virus and enhancing the Th1 type immune response. J Viral Hepat, 2004, 11:105-112.

[10] Jin B, Wang RY, Qiu Q, et al. Induction of potent cellular immune response in mice by a hepatitis C virus NS3 protein with double-stranded RNA. Immunology, 2007, 122:15-27. :[PubMed]

[11] 温少芳, 张锦前, 孙荣华, 等. 人胰腺细胞cDNA文库中丙型肝炎病毒NS4B结合蛋白基因克隆及表达. 中华临床医师杂志: 电子版, 2011, 5:2523-2526.

[12] 徐洪涛, 邢同京. miRNA介导的丙型肝炎病毒与宿主相互作用研究进展[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2011, 5:3585-3587.

论 著

乙型肝炎病毒相关慢加急性肝衰竭患者外周血调节性T细胞、血清白细胞介素-6表达及动态变化的研究
李晨, 王慧芬, 胡瑾华, 段学章, 万谟彬, 辛绍杰. .中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6232-6237.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

丙型肝炎病毒非结构蛋白3的体外表达与纯化
金博, 李楠, 吴凯, 张林, 王艳梅, 翟俊山, 朱超慧, 宋久刚. .中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6238-6241.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

肝炎肝硬化患者QTc间期、Tp-e间期和Tp-e/QT的临床观察
张海霞. .中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6242-6245.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

1H-MRS测定肝脂肪含量在非酒精性脂肪肝肝纤维化趋势中的应用价值
韩芳, 万凯明, 韩敏, 胡明秀, 李长富, 沈洪, 孟令平. .中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6246-6249.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

体重指数与非酒精性脂肪肝的相关性研究
费洪华, 董彦军, 王家安, 翟木绪. .中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6250-6254.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

自身抗体及生化学指标对自身免疫性肝病筛查及诊断的意义
韩丽利, 路遥, 张艳丽, 申戈, 张璐, 邱国华, 吴云忠, 杨民, 李明慧, 谢尧, 成军, 徐道振.
电子版
2012;6(20):6255-6259.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

瞬时弹性超声与多参数模型联合诊断肝纤维化、肝硬化的临床研究

曲加祥, 刘立新. . 中华临床医师杂志: 电子版

2012;6(20):6260-6264.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

预测肝癌微血管侵犯及早期复发的临床研究

马海, 王宇, 杨红春, 田云鸿. . 中华临床医师杂志: 电子版

2012;6(20):6265-6268.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

肝细胞肝癌术后复发时间对再次手术预后的影响

卢欣, 徐意瑶, 杨华瑜, 桑新亭, 赵海涛, 杜顺达, 徐海峰, 迟天毅, 毛一雷, 钟守先, 黄洁夫
志: 电子版

2012;6(20):6269-6272.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

乳腺肿瘤缺氧诱导因子-1 α 的表达与BOLD-MRI成像的关系研究

刘敏, 翟晓辉, 王莹, 金木兰, 郭晓娟, 李杰. . 中华临床医师杂志: 电子版

2012;6(20):6273-6277.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

突触核蛋白- γ 对乳腺癌雌激素受体表达的影响

陆云姝, 吴克瑾, 林清, 沈伟, 王永坤. . 中华临床医师杂志: 电子版

2012;6(20):6278-6281.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

CD133在未分化甲状腺癌肿瘤干细胞中的作用研究

关明媚, 梁伟, 陈文激, 刘国龙, 翁成荫, 毛海波. . 中华临床医师杂志: 电子版

2012;6(20):6282-6285.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

声脉冲辐射力弹性成像鉴别甲状腺结节良恶性的价值

张一峰, 徐辉雄, 刘畅, 刘媛媛, 郭乐杭, 吴蓉, 刘琳娜, 王帅, 何勇. . 中华临床医师杂志: 电

2012;6(20):6286-6290.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

顺铂联合贝伐珠单抗对老年肺癌胸腔积液血管内皮生长因子表达的影响及疗效观察

杜楠, 赵辉, 王海滨, 李晓松, 付艳, 范忠义, 陈殿君, 孙君重, 高珂. . 中华临床医师杂志: 电

2012;6(20):6291-6295.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

重组人p53腺病毒联合苦参碱对肺癌A549细胞生长抑制作用及其机制探讨

周小娟, 谢萍, 司小敏, 吕建建. . 中华临床医师杂志: 电子版

2012;6(20):6296-6300.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

化疗联合DC-CIK细胞治疗对胰腺癌患者免疫功能的影响

刘爱华. . 中华临床医师杂志: 电子版

2012;6(20):6301-6305.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

人肌细胞增强因子2C基因慢病毒载体的构建及其在293T细胞中的表达

孙兆刚, 付鹏, 刘爱华, 王静波, 孙新六, 刘兴田. . 中华临床医师杂志: 电子版

2012;6(20):6306-6309.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

白藜芦醇对心肌微血管内皮细胞缺氧/复氧的保护及作用机制

左惠荣, 司瑞, 党晶艺, 王亚斌, 张荣庆, 郭文怡. . 中华临床医师杂志: 电子版

2012;6(20):6310-6314.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

320排CT评价冠状动脉支架通畅性及再狭窄的初步探讨

丁娟, 孙钢, 李国英, 朱士芳, 李胜辉, 李理. . 中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6315-6318.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

Tei指数在评估孤立性心包积液胎儿心功能中的价值

胡智安, 韩鄂辉, 张频, 朱静安, 吕志红, 洪玮, 王从农, 喻磊, 黄娅娟, 刘锦萍. . 中华临床医
2012;6(20):6319-6324.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

脑静脉窦血栓形成的临床和影像学表现

林雪, 陈军, 赵益林. . 中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6325-6329.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

血管回声跟踪技术评价模拟失重状态对女性颈总动脉血管弹性的影响

王兵, 贾化平, 梁会泽, 何薇薇. . 中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6330-6333.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

超声二维应变与脉搏波传导速度对慢性肾衰竭患者颈动脉粥样硬化的评价

于妍洁, 林萍, 张丽, 赵久阳. . 中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6334-6337.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

他克莫司对人肾小球系膜细胞细胞周期相关蛋白表达的影响

张瑞婧, 李荣山, 白波, 邵珊, 杨鹏, 雒娇娇. . 中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6338-6343.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

成人肾盂输尿管交界处梗阻性病变的临床病理学特点与超声诊断评价

张毅, 王新生, 王正滨, 袁梅, 孙立江, 李玉军. . 中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6344-6349.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

抗抑郁治疗对老年高血压合并抑郁患者血压和生命质量的影响

马丽娜, 冯明, 李耘. . 中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6350-6354.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

TIPE2 mRNA在幽门螺杆菌感染患者外周血中的表达及其意义

徐万菊, 乌琳琳, 韩玉刚, 马万山. . 中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6355-6358.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

复方多黏菌素B软膏治疗烧伤残余创面的疗效初步观察

莫绍江, 唐洪泰, 陈郑礼, 朱世辉, 路卫, 贲道锋, 夏照帆. . 中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6359-6362.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

血清IL-17水平与2型糖尿病及血管病变的关系

代莉, 谭春萍, 李洪, 李顺品. . 中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6363-6365.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

体重指数对体外受精反应参数及妊娠结局的影响

葛丽, 郝翠芳, 包洪初, 张宁, 曲庆兰, 王梅梅, 庄丽丽. . 中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6366-6369.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

原发性三叉神经痛MRI特点的研究

李芳珍, 李惠民, 刘明, 张玉珍, 包磊, 李美蓉, 汤光宇. . 中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6370-6373.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

穴位针刺的脑功能磁共振成像: 真穴、假穴和触觉刺激的对照研究

姜庆军, 刘士远, 肖湘生, 孙钢, 杨晓, 李勃. . 中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6374-6378.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

正常胎儿静脉血流频谱分析及其临床意义

许进, 何怡华, 李治安, 刘琳, 刘鲲, 李一丹, 王俊兰, 侯苏芸. . 中华临床医师杂志: 电子版
2012;6(20):6379-6382.

[摘要](#) [FullText](#) [PDF](#) [评论](#) [收藏](#)

| [编委会](#) | [联系我们](#) | [合作伙伴](#) | [友情链接](#) |

© 2013版权声明 中华临床医师杂志(电子版)编辑部
网站建设: 北京华夏世通信息技术有限公司 京ICP备0
北京市公安局西城分局备案编号: 110102000676