

[文章编号] 1000-1182(2006)06-0541-05

变形链球菌高毒力株特异DNA片段的序列测定及生物信息学分析

郭丽宏¹, 史俊南²

(1.北京大学口腔医学院 生物教研室, 北京 100081; 2.第四军医大学口腔医院 牙体病科, 陕西 西安 710032)

[摘要] 目的 将筛选得到的变形链球菌高毒力株特异的DNA片段序列与数据库中已知序列进行对比, 发现高毒力株特异的新基因或已知基因的新功能, 推测、鉴定基因所编码蛋白质的功能。方法 对筛选得到的c血清型变形链球菌高毒力株特异的31个DNA片段进行序列测定, 利用BLAST 2.2.6程序进行核苷酸和含6相位阅读框架编码的氨基酸的相似性检索。结果 变形链球菌高毒力株特异的31个DNA片段中, 2个为重复克隆, 片段大小在113~776 bp之间, 平均G+C含量为38.59%, 与已完成测序的变形链球菌UA159基因编码区的G+C含量相近。发现了5个新的基因片段, 其余的片段均与变形链球菌UA159基因组中的基因有高度的同源性。依据推测的功能, 高毒力株特异的DNA片段主要与信号转导及转录调节、修复应激损伤、生化代谢、外膜蛋白合成及粘附以及目前功能仍未知或不确定的假想蛋白有关。结论 利用生物信息学相关软件及数据库进行c血清型变形链球菌高毒力株特异DNA片段的基因分析、识别及功能预测, 发现了5个新的基因片段以及高毒力株特异的DNA片段的主要功能, 为进一步的基因功能研究奠定基础。

[关键词] 变形链球菌; 测序; 生物信息学; 相似性检索

[中图分类号] R781.1 **[文献标识码]** A

Sequencing and Bioinformatical Analysis of Virulent Strain-specific DNA Fragments from *Streptococcus mutans* GUO Li-hong¹, SHI Jun-nan². (1. Dept. of Biology, College of Stomatology, Peking University, Beijing 100081, China; 2. Dept. of Oral Medicine, College of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

[Abstract] **Objective** To search the DNA sequences specific to virulent strain of *Streptococcus mutans* in the public database and explore new genes or new functions of already known genes from *Streptococcus mutans* of serotype c and suppose their functions. **Methods** Thirty-one DNA fragments unique to virulent strain of *Streptococcus mutans* were sequenced. The sequences of these presumptive virulence DNA fragments were subjected to search through software BLASTn and BLASTx in public database, and their putative biological functions were analyzed. **Results** Two clones were picked repeatedly. The size of the remaining DNA fragments ranged from 113 bp to 776 bp. The average G+C content was 38.59%, similar to that of the gene-coding sequences in *Streptococcus mutans* strain UA159 whose genome sequences were just complete. Of the twenty-nine DNA fragments, five potentially represented new DNA fragments in *Streptococcus mutans*, thus registered and obtained their gene's accession number in GenBank. The remaining DNA fragments showed high homology to known genes of *Streptococcus mutans* strain UA159. Their predicted functions of these fragments were associated to bacterial signal transduction, transcriptional regulation, stress-damage repair, biochemical metabolism, outer membrane protein synthesis, adhesion on tooth surface and hypothetical proteins. **Conclusion** The gene analysis, identification and functional forecasting were carried out through bioinformatics associated software and database to find out new genes and new functions of known genes, and to supply the groundwork for researches in gene functions.

[Key words] *Streptococcus mutans*; sequencing; bioinformatics; homology search

[收稿日期] 2006-02-23; [修回日期] 2006-08-07

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30271417);北京市自然科学基金资助项目(7042035)

[作者简介] 郭丽宏(1972-),女,福建人,副教授,博士

[通讯作者] 郭丽宏, Tel: 010-62179977-2535

随着变形链球菌菌株UA159在内的数十种微生物全基因组序列的测定 (<http://www.genome.ou.edu>), 大量功能基因的研究完成, 各种数据库中核酸和蛋白质序列呈指数级增长, 如何分析和利用这些生物

信息,促进基因的结构和功能的研究,已经成为一门新兴的学科——生物信息学的主要内容。作为21世纪自然科学的核心领域之一,生物信息学使得学者们能从复杂无序的信息海洋中寻找出有用的数据。从新基因的发现、蛋白质的结构和功能预测、疫苗的筛选到新药的研制无不依赖于生物信息学。因此对筛选得到的变形链球菌高毒力株特异的DNA片段进行序列测定,并利用生物信息学相关软件及数据库进行基因分析、识别及功能预测,从而发现新基因或已知基因的新功能,推测、鉴定基因所编码蛋白质的功能,将为高毒力株特异基因的进一步功能研究提供指导。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 测序样本 由同1个高龋患者 龋失补牙面数大于或等于10)口腔筛选出1对均为c血清型变形链球菌的高、低毒力株^[1],采用抑制消减杂交技术结合高通量筛选方法,获得了c血清型变形链球菌高毒力株特异的阳性克隆^[2-3],从中随机挑取31个克隆,甘油保种,-70℃贮存。

1.1.2 主要试剂与设备 UltraClean Mini质粒抽提试剂盒和UltraClean PCR纯化试剂盒 MOBIO公司,美国);PCT-100型PCR扩增仪 MJ Research 公司,美国);ABI377测序仪 AB公司,美国)。

1.2 方法

将甘油保种的31个高毒力株特异的阳性克隆送

至专业生物技术有限公司进行阳性克隆中插入序列的测序,将测得的序列用相关DNA分析软件DNASIS v2.5以及网上资源www.ncbi.nlm.nih.gov分析,去除两端载体序列以及特异连接的接头序列,即为插入的高毒力株特异的DNA片段序列。随后分析最大的开放阅读框架及限制性内切酶酶切位点,利用基本局部比对搜索工具BLAST程序 basic local alignment search tool)进行同源性分析。

2 结果

2.1 变形链球菌高毒力株特异DNA片段的序列测定结果

高毒力株特异的31个片段,2个为重复克隆,即实际上是29个片段,大小在113~776 bp之间,大于500 bp的抑制消减片段有5个,占16.1%,这与抑制消减杂交技术要求酶切片段小于500 bp才能保证筛选的敏感性与特异性相一致。所测的片段平均G+C含量为38.59%,与完成测序的变形链球菌UA159菌株基因编码区的G+C含量相近。

2.2 高毒力株特异DNA片段的生物信息学分析

通过BLAST 2.2.6程序进行核苷酸和6相位阅读框架编码氨基酸的相似性检索,结果见表1。29个高毒力株特异的DNA片段中,5个为新的基因片段,在GenBank中登记,序列号为CC156475~156478和CC156487。序列翻译产物与UA159蛋白质同源性为83%~85%的有4个,同源性为90%~99%的有14个,完全一致的有10个。

表 1 变形链球菌高毒力株特异片段的相似性检索结果

Tab 1 Summary of sequence analysis of the virulent-specific fragments of *Streptococcus mutans*

基因片段编号	长度 (bp)	G+C含量 (%)	GeneBank 的序列号	与变形链球菌UA159蛋白质的同源性	E值	同源性
SFA2	307	35.17	CC156475	1~74 bp :GTF-S of <i>S.mutans</i> UA159 74~307 bp molecular chaperone DnaK of <i>S.mutans</i> UA159	2e-05 7e-36	22/24 91% 78/78 100%
SFA4	577	39.68	UA159	1~242 bp putative ABC transporter, ATP-binding protein of <i>S.mutans</i> UA159 238~577 bp; putative ABC transporter, ATP-binding protein of <i>S.mutans</i> UA159	2e-37 1e-44	80/80 100% 92/113 81%
SFA5, SFC6	348	42.52	UA159	putative late competence protein of <i>S.mutans</i> UA159	1e-60	112/115 97%
SFA6	243	41.15	UA159	putative O-acetylhomoserine sulfhydrylase of <i>S.mutans</i> UA159	7e-40	80/80 100%
SFA8	340	37.05	UA159	hypothetical protein of <i>S.mutans</i> UA159	2e-48	90/92 97%
SFA9	392	38.51	UA159	putative phospho-sugar mutase of <i>S.mutans</i> UA159	2e-67	127/130 97%
SFA10	207	42.02	UA159	putative GMP synthase of <i>S.mutans</i> UA159	2e-32	69/69 100%
SFB2	377	44.82	CC156487	1~284 bp putative response regulator SpaR of <i>S.mutans</i> UA159 284~377 bp: conserved hypothetical protein; phosphoglycerate mutase-like protein of <i>S.mutans</i> UA159	4e-41 9e-12	86/94 91% 30/31 96%
SFB3	415	39.27	UA159	conserved hypothetical protein of <i>S.mutans</i> UA159	2e-75	138/138 100%

续表1

基因片段编号	长度 (bp)	G+C含量 (%)	GeneBank的序列号	与变形链球菌UA159蛋白质的同源性	E值	同源性
SFB9	336	47.31		putative GTP-binding protein of <i>S.mutans</i> UA159	7e-57	110/111 99%
SFB12	337	31.75		putative SNF helicase of <i>S.mutans</i> UA159	2e-58	112/112 100%
SFC2	159	42.76		putative N-acetylglucosamine-6-phosphate deacetylase of <i>S.mutans</i> UA159	6e-23	51/52 98%
SFC3	196	40.80		putative calcium-transporting ATPase; P-type ATPase of <i>S.mutans</i> UA159	1e-28	65/65 100%
SFC5, SFF11	310	36.44		catabolite control protein A, CcpA of <i>S.mutans</i> UA159	2e-35	77/90 85%
SFC7	633	40.59		putative threonyl-tRNA synthetase of <i>S.mutans</i> UA159	e-123	210/210 100%
SFC8	356	37.63		putative ABC transporter, permease of <i>S.mutans</i> UA159	5e-49	99/118 83%
SFD3	363	39.94		glutamate synthase (large subunit) of <i>S.mutans</i> UA159	1e-63	119/120 99%
SFD5	325	37.53		putative Clp proteinase, ATP-binding subunit ClpB of <i>S.mutans</i> UA159	2e-54	107/107 100%
SFD6	401	36.15	CC156476	conserved hypothetical protein of <i>S.mutans</i> UA159	6e-57	110/136 80%
SFD7	401	31.91	CC156477	NONE		
SFD9	266	36.46	CC156478	NONE		
SFE2	343	35.26		putative N-acetylglucosamine-6-phosphate isomerase of <i>S.mutans</i> UA159	3e-60	114/114 100%
SFE3	369	36.31		putative ABC transporter, branched chain amino acid-binding protein of <i>S.mutans</i> UA159	8e-55	104/122 85%
SFE9	285	42.45		putative integral membrane protein; possible permease of <i>S.mutans</i> UA159	1e-38	79/94 84%
SFF6	334	34.13		putative DNA mismatch repair protein MutS2 of <i>S.mutans</i> UA159	6e-58	109/111 98%
SFF7	571	35.19		putative acetoin utilization protein, acetoin dehydrogenase of <i>S.mutans</i> UA159	5e-75	145/146 99%
SFG5	505	41.18		putative MDR permease; transmembrane efflux protein of <i>S.mutans</i> UA159	1e-72	149/165 90%
SFG10	240	34.58		regulator of sorbitol operon of <i>S.mutans</i> UA159	e-104	191/195 97%
SFH12	655	38.77		putative UDP-glucose 4-epimerase of <i>S.mutans</i> UA159	e-119	216/218 99%

注：E值表示片段匹配的可能性。E值≤1e-5时显示匹配具有显著性；E值等于0.001时也被认为查询结果有意义

3 讨论

高毒力株特异的DNA片段依据推测的功能可分为5类：①与信号转导、转录调节有关，②与修复应激损伤有关，③与生化代谢有关，④与外膜蛋白合成及粘附有关，⑤目前功能未知或不确定。

3.1 与信号转导、转录调节功能有关

SFB9与变形链球菌UA159的GTP结合蛋白有99%的同源性。该蛋白属于GTPase超家族，与跨膜信号传递、细胞周期的调节有关。研究^[4]表明，随着环境温度的升高，pH的下降，G蛋白的含量增加，提示它在变形链球菌对外界应力的反应方面起作用。

SFC5与UA159的CcpA (catabolite control protein A)有85%的同源性。CcpA通过与诱导酶结构基因启动子上或附近的CRE (catabolite-responsive element) 结合，从而抑制诱导酶结构基因的表达，是分解阻

遏的负性调控。CcpA与细菌的毒力有关，*S.pneumoniae* ccpA基因插入性失活的突变株较野生株在动物模型中的致病力下降，合成荚膜多糖的能力也显著降低^[5]；将变形链球菌UA159的ccpA基因缺失，发现突变株形成生物膜的能力下降了60%^[6]。

3.2 与修复应激损伤有关

SFD5为ClpB蛋白酶，具有2个ATP结合位点，属于Clp家族。ClpB与DnaK共同构成DnaK/ClpB伴侣系统，在变形链球菌中，能防止蛋白在外界应力的作用下凝集，并可使发生了凝集的蛋白重新折叠^[7]。*Thermus thermophilus*及*E.coli*的clpB基因缺失后，突变株对高温、酸及乙醇均较野生株敏感^[8]。

SFF6与DNA错配修复蛋白MutS2有98%的同源性，能识别错配的碱基并启动修复。MutS2具有非特异性DNA结合活性，其具体的识别机制仍不清楚，但可能并不直接修复错配的DNA，而是与错配

的DNA结合^[9]。

3.3 与生化代谢有关

SFA9与UA159中的磷酸变位酶有97%的同源性，催化6-P-氨基葡萄糖生成1-P-氨基葡萄糖，参与了对外界环境改变的适应性反应。研究^[10]表明磷酸变位酶与生物膜的形成也有关，将该酶的结构基因中插入Tn916转座子后，*S.gordonii* Challis不再形成生物膜。

SFC2与N-乙酰氨基葡萄糖-6-磷酸-去乙酰化酶有98%的同源性，SFE2为N-乙酰氨基葡萄糖-6-磷酸-异构酶，两者参与了GlcNAc的分解，与细菌形态及毒力有关。研究^[11]表明N-乙酰氨基葡萄糖-6-磷酸-去乙酰化酶缺陷的白色念珠菌在动物模型中的致病力明显降低，并且不易粘附于人类上皮细胞。变形链球菌可利用N-乙酰氨基葡萄糖-6-磷酸-去乙酰化酶及N-乙酰氨基葡萄糖-6-磷酸-异构酶分解唾液中糖蛋白的寡糖侧链，以作为营养物质的来源，而*S.sobrinus*不含此酶，不能利用唾液中的糖蛋白，因而变形链球菌较*S.sobrinus*更易于在口内持续定植，检出率更高。

SFC7为苏酰基-tRNA合成酶，可催化苏氨酸与对应tRNA之间的联接反应，有助于翻译的忠实性。Becker等^[12]采用代表性差异分析方法，比较粘附生长与漂浮生长的*S.aureus*的总RNA，发现了5个与粘附生长、生物膜形成有关的基因，其中就有苏酰基-tRNA合成酶的编码基因，提示该酶参与了细菌生物膜的形成。笔者采用抑制消减杂交技术，通过比较变形链球菌高、低毒力株之间的基因组，初次发现苏酰基-tRNA合成酶的编码基因为高毒力株特有的基因，其毒力可能也与其参与粘附、生物膜形成有关。

3.4 与外膜蛋白合成及粘附有关

SFC8与变形链球菌UA159及LT11的PsaB有83%的同源性，PsaB是一种分泌性ABC转运蛋白。由于*S.pneumoniae* PsaB缺失的突变株在动物模型中的毒力完全丧失，并且不能定植于腹膜上，因而可将psaB作为构建疫苗的靶基因^[13]。Tao等^[14]也发现PsaB参与了变形链球菌的蔗糖依赖性粘附。

SFG5与多药抗性 multidrug resistance, MDR)转运蛋白有90%的同源性。由于抗生素的大量使用以及使用含氟牙膏及其他药物牙膏、漱口水等，使得变形链球菌对许多抗生素具有抗性。多药抗性转运蛋白还可将胞内的一些结构非相关的毒性复合物如变性剂、有机溶剂等转运出细胞，使其免受各种环境毒素侵害，有助于保持细胞膜的完整性。此外，多药抗性转运蛋白还参与了变形链球菌的蔗糖依赖

性粘附^[14]，将该蛋白的编码基因缺失后，突变株不能在鼠口腔内定植，不具备致龋能力。Zhang等^[15]比较了尿路致病性*E.coli*与非致病性*E.coli*的基因组，发现多药抗性转运蛋白的编码基因是尿路致病性*E.coli*特有的基因，提示该种蛋白与*E.coli*的致病性有关。

3.5 目前功能未知或不确定

SFA8及SFB3与功能未知的假想蛋白同源。SFD7、SFD9与数据库中的序列无同源性，SFD6仅部分序列与数据库中的序列有同源性，因而功能不能推测。SFA2及SFB2的前、后序列分别与变形链球菌UA159中的2个互不毗邻排列的基因同源。SFA2前面部分的序列翻译产物与UA159 GTF-S内部的24个氨基酸有91%的同源性，而后面部分的序列翻译产物为热休克蛋白DnaK的N端78个氨基酸，这两个蛋白的编码基因在UA159基因组中并不毗邻排列，但却位于SFA2片段中，这可能是由于染色体重排所致。SFB2前面部分的序列翻译产物与二元信号转导系统中的应答调节子SpaR内部的94个氨基酸有91%的同源性，后面部分的序列翻译产物与磷酸甘油酸变位酶内部的31个氨基酸有96%的同源性，这两个蛋白的编码基因在UA159基因组中也不毗邻排列。这种由2个互不毗邻的基因的部分序列相连接形成的DNA片段可能具有新的功能。

生物信息学的发展加速了基因结构的鉴定和功能的预测。然而对筛选出的高毒力株特有的DNA片段进行同源性比较，只能获取基因功能的可能信息，一个推导的基因是否编码真正意义上的蛋白质，是否具有相应的生物学功能，仍需进行基因的功能研究，以确定它们与龋病之间的直接联系。

[参考文献]

- [1] 郭丽宏, 史俊南, 朱 砾, 等. 同一口腔中c血清型变形链球菌高、低毒力株的筛选[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2003, 16(10): 543-547.
(GUO Li-hong, SHI Jun-nan, ZHU Zhu, et al. Isolation of high and low virulent strains of *Streptococcus mutans* of serotype c from the same oral cavity[J]. Chin J Conserv Dent, 2003, 13(10) 543-547.)
- [2] 郭丽宏, 史俊南, 张 莹. 利用抑制消减杂交技术构建变形链球菌高毒力株特有的基因文库[J]. 华西口腔医学杂志, 2005, 23(6) 524-528.
(GUO Li-hong, SHI Jun-nan, ZHANG Ying. Construction of a virulence-related gene library of *Streptococcus mutans* by suppression subtractive hybridization[J]. West China J Stomatol, 2005, 28(6) 524-528.)
- [3] 郭丽宏, 史俊南, 肖晓蓉, 等. c血清型变形链球菌致龋相关基因/DNA片段的批量克隆与高通量筛选[J]. 现代口腔医学杂志, 2005, 19(3) 266-269.

- (GUO Li-hong, SHI Jun-nan, XIAO Xiao-rong, et al. Batch cloning and a high throughput screening for virulent genes of *Streptococcus mutans*[J]. J Modern Stomatol, 2005, 10(3): 266-269.)
- [4] Baev D, England R, Kuramitsu HK. Stress-induced membrane association of the *Streptococcus mutans* GTP-binding protein, an essential G protein, and investigation of its physiological role by utilizing an antisense RNA strategy[J]. Infect Immun, 1999, 67(9): 4510-4516.
- [5] Giammarinaro P, Paton JC. Role of RegM, a homologue of the catabolite repressor protein CcpA, in the virulence of *Streptococcus pneumoniae*[J]. Infect Immun, 2002, 70(10): 5454-5461.
- [6] Wen ZT, Burne RA. Functional genomics approach to identifying genes required for biofilm development by *Streptococcus mutans* [J]. Appl Environ Microbiol, 2002, 68(3): 1196-1203.
- [7] Lemos JA, Burne RA. Regulation and physiological significance of ClpC and ClpP in *Streptococcus mutans*[J]. J Bacteriol, 2002, 184(22): 6357-6366.
- [8] Ekaza E, Teyssier J, Ouahrani-Bettache S, et al. Characterization of *Brucella suis* clpB and clpAB mutants and participation of the genes in stress responses[J]. J Bacteriol, 2001, 183(8): 2677-2681.
- [9] Vijayvargia R, Biswas M. MutS2 family protein from *Pyrococcus furiosus*[J]. Curr Microbiol, 2002, 44(3): 224-228.
- [10] Loo CY, Corliss DA, Ganeshkumar N. *Streptococcus gordonii* biofilm formation: Identification of genes that code for biofilm phenotypes[J]. J Bacteriol, 2000, 182(5): 1374-1382.
- [11] Singh P, Ghosh S, Datta A. Attenuation of virulence and changes in morphology in *Candida albicans* by disruption of the N-acetylglucosamine catabolic pathway[J]. Infect Immun, 2001, 69(12): 7898-7903.
- [12] Becker P, Hufnagle W, Peters G, et al. Detection of differential gene expression in biofilm-forming versus planktonic population of *Staphylococcus aureus* using micro-representational-difference analysis[J]. Appl Environ Microbiol, 2001, 67(7): 2958-2965.
- [13] Marra A, Lawson S, Asundi JS, et al. *In vivo* characterization of the psa genes from *Streptococcus pneumoniae* in multiple models of infection[J]. Microbiol, 2002, 146(Pt5): 1483-1491.
- [14] Tao L, Tanzer JM. Novel sucrose-dependent adhesion co-factors in *Streptococcus mutans*[J]. J Dent Res, 2002, 81(7): 505-510.
- [15] Zhang L, Foxman B, Manning SD, et al. Molecular epidemiologic approaches to urinary tract infection gene discovery in uropathogenic *Escherichia coli*[J]. Infect Immun, 2000, 68(4): 2009-2015.

(本文编辑 汤亚玲)

第七届华西口腔医学学术会议暨第七届中国西部 口腔医学学术会议征文通知

世纪辉煌，盛世相约，2007年金秋时节，四川大学华西口腔医院将迎来百年华诞。届时，为促进我国西部地区口腔医学学术交流，同时庆祝四川大学华西口腔医院百年诞辰，将于2007年8月28日至30日在四川省成都市召开“第七届华西口腔医学学术会议暨第七届中国西部口腔医学学术会议”。此次会议由中国西部口腔医学协作组、四川大学华西口腔医院主办和承办，并得到国内各口腔医学院和各省市区口腔医院等单位的全力支持。会议同期将举办第七届中国西部国际口腔设备及材料展览会。

本次会议将邀请全国著名的专家学者，全面讲授口腔医学领域中各科临床实用新技术和新进展，同时代表及校友们可以就口腔临床技术、管理、经营等各方面的问题进行交流和探讨。本届会议设有口腔医学论文交流，被录用的论文将收入“第七届华西口腔医学学术会议暨第七届中国西部口腔医学学术会议”论文汇编并获得论文证书，并向《华西口腔医学杂志》《口腔设备及材料》等杂志推荐发表。参加会议的代表及校友如需要可获得国家级继续教育项目证书及继续教育学分。

我们不仅期待着广大西部地区的口腔专业人员积极投稿参加会议，同时热情地欢迎全国各个地区的口腔专业代表能投稿并参加这次高水平的学术会议，并热情欢迎广大华西口腔校友和师生投稿参会交流，共同庆贺华西口腔医院华诞。母校欢迎您的到来！

一、 征文内容：未公开发表的口腔内科、口腔修复、口腔颌面外科、口腔正畸、口腔种植、口腔预防、口腔儿童牙病等临床实用技术、新技术和应用基础研究，口腔新设备、新材料的使用体会及评价，口腔科室及诊所运营及管理经验等。

二、 稿件要求：来稿请寄(中英文)文题目、中文作者单位和作者姓名，300-500字以内四段式结构(中英文)文摘要(包括目的、方法、结果和结论)。要求交打印稿1份(用Word格式录入)及相应Word格式的电子文件软盘或发电子邮件；来稿请注明详细通讯地址、邮政编码和联系电话。

三、 截稿日期：2007年6月30日(邮戳为准)。

四、 参会人员会务费：每人600元(交通住宿费自理)。

五、 通信地址：四川省成都市人民南路三段十四号四川大学华西口腔医院科研科。联系人：王亚、胡涛。邮政编码：610041。联系电话：028-85502416(办公室)，E-mail: hxkqky@163.com，请在信封或电子邮件标题上注明：“中国西部口腔医学学术会议暨百年华诞院庆学术会议”征文字样。

第七届华西口腔医学学术会议暨第七届中国西部口腔医学学术会议筹委会
四川大学华西口腔医学院