

人乳头瘤病毒 6 型基因组晚期区序列分析[△]

王 淼 张明策 许雪梅 陈连凤 宋国兴[#]

(中国医学科学院 中国协和医科大学 基础医学研究所生物物理室, 北京 100005)

摘要 目的 初步分析我国尖锐湿疣患者病变组织分离的乳头瘤病毒 6 型 (HPV-6) 基因组晚期区编码序列变异情况。方法 采用重叠 PCR 设计, 分别从 HPV-6 阳性尖锐湿疣患者病变组织扩增出主要衣壳蛋白 L1 和次要衣壳蛋白 L2 基因片段, 插入质粒载体克隆, 经测序、拼接获得 HPV-6 基因组晚期区序列。结果 得到的两条长 2 869 bp 的 HPV-6 晚期区序列 (GenBank 序列索取号 AY015006, AY015008) 均具有完整的 L1 和 L2 开放阅读框 (ORF), 与原型序列比较, 在 L1 和 L2 ORF 中共有 9 个核苷酸变异, 其中错义突变 4 个 (有 3 个发生在 L2 ORF, 1 个在 L1 ORF)。分子进化分析表明, 克隆的晚期区序列属于 HPV-6b 亚型。结论 HPV-6 基因组晚期区编码序列非常保守 (核苷酸变异率小于 0.28%), 并且 L1 ORF 比 L2 ORF 更为保守, 其中位于 L1 ORF 中 7 081 位的 A→G 和 7 099 位的 G→A 两处共有突变在我国 HPV-6 分离物中具有代表性。本研究首次从我国尖锐湿疣组织标本克隆了 HPV-6 基因组晚期区全长编码序列。

关键词 尖锐湿疣 人乳头瘤病毒 6 型 晚期区

中图分类号 R373.9

Sequence Analysis of the Late Region of Human Papillomavirus Type 6 Genome[△]

Wang Miao Zhang Ming-ce Xu Xue-mei Chen Lian-feng Song Guo-xing[#]

(Department of Biophysics, Institute of Basic Medical Sciences, CAMS and PUMC, Beijing 100005, China)

Objective To study variations of genome late region of human papillomavirus type 6 (HPV-6) isolated from Chinese patients with condyloma acuminatum. **Methods** Using overlap PCR design, major capsid protein (L1) and minor capsid protein (L2) genes were separately amplified from clinical samples following HPV type determination, and were further assembled into HPV-6 genome late region sequences after inserting into plasmid and sequencing. **Results** Two sequences (GenBank accession number AY015006, AY015008) of HPV-6 late region were assembled, which are 2 869 bp long covering 35% HPV-6 genome and with complete open reading frames (ORFs) for L1 and L2. Compared with prototype sequence, nine point mutations were found, including four missense mutations, three of which were located in L2 ORF. Phylogenetic analysis indicated that the cloned sequences are classified into HPV-6b. **Conclusions** HPV-6 genome late region, especially in L1 ORF, is very conserved (variation rate < 0.28%). The mutation from A to G at position 7081 in HPV-6 genome and from G to A at 7099 may represent region characteristics. This is the first report that describes sequence variations among genome late region of HPV-6 isolated from Chinese patients.

Key words condyloma acuminatum; human papillomavirus type 6; late region

Acta Acad Med Sin, 2001,23(6): 568 ~ 572

人乳头瘤病毒 (HPV) 是一类双链小分子 DNA 病毒, 具有严格的种属特异性, 主要感染人的皮肤

和粘膜组织,引起相应部位上皮组织的增生性病变。根据增生病变的性质,HPV可分为引起良性增生病变的低危型和与人类多种组织恶性肿瘤密切相关的高危型。根据核酸序列同源性,HPV可分为80多型,感染生殖器和肛门区域的包括低危型(如6,11,42,43,44型)和高危型(如16,18,31,33等型),后者与生殖器肛门区域癌变密切相关。尖锐湿疣主要是由人乳头瘤病毒6型(HPV-6)和11型(HPV-11)感染人生殖器官及附近表皮引起的一种常见的性传播疾病,是第二高发性病(仅次于淋病),并且发病数逐年增加。

完整的HPV颗粒直径约55 nm,由病毒基因组DNA与衣壳两部分组成,无包膜。病毒基因组是双链环状DNA,约8 kb,分为三个功能区:早期区,编码6个非结构蛋白,与病毒的复制、转录和转化作用有关;晚期区,编码主要衣壳蛋白L1和次要衣壳蛋白L2两个结构蛋白,参与病毒粒子的组装;长控制区(LCR),不编码任何蛋白,含有多种调控元件,影响病毒的复制和转录。

本文报道从我国尖锐湿疣患者病变组织提取病毒基因组DNA,经分型后,采用重叠PCR设计从两例HPV-6阳性组织标本分别扩增出L1和L2基因片段,插入质粒载体克隆,经测序、拼接得到HPV-6晚期区全长编码序列,并进行了序列分析。

材料和方法

组织标本 尖锐湿疣患者病变组织J和X分别取自锦州和新乡的女性患者,保存于-20℃。

菌株和载体质粒 大肠杆菌DH5 α 为本室保存,加T载体(pGEM-T easy)试剂盒购自Promega公司。

主要试剂 各种限制性内切酶及DNA标准分子量购于协和医大基础所开发公司,Taq plus DNA聚合酶以及引物为上海生工生物工程公司产品,X-gal、氨苄青霉素、dNTP为赛百盛公司产品,蛋白酶K为Merk公司产品,DNA测序反应试剂盒Big-Dye为PE公司产品。

从病变组织中提取病毒DNA 取略大于小米粒的尖锐湿疣组织标本于0.5 ml Eppendorf管中,充分剪碎,加200 μ l抽提缓冲液(10 mmol/L Tris-HCl, pH8.0; 2 mmol/L EDTA, pH8.0; 10 mg/ml DTT; 0.1% SDS; 500 μ g/ml蛋白酶K),充分混匀,50℃水浴,其间不时轻微振动试管,直至组织完全溶解(约1.5 h)。以等体积酚、酚-氯仿-异戊醇、氯仿-异戊醇各抽提一次,上清中加入1/10体积的醋酸钨

(pH 5.2)和两倍体积无水乙醇,混匀,-20℃沉淀过夜,12 000 r/min离心,弃上清,70%乙醇洗沉淀,沉淀于空气中适当干燥后,溶于25 μ l TE (RNase 20 μ g/ml)中,测OD260并计算DNA浓度,样品贮存于4℃备用。

HPV-6 L1和L2基因的PCR扩增 引物参照HPV-6原型序列^[1]设计。L1基因上游引物P1:5'-CCGGATCC_{BamHI} AATA₅₇₈₉TGTGGCGGCCTAGCGACA G-CA-3';下游引物P2:5'-CAGGATCC_{BamHI}T₇₂₉₁TACCTTTTAGTTTTGGCGCGCTT-3'。L2基因上游引物P3:5'-GCAGATCT_{Bgl II} AATA₄₄₂₃TGGCACA TAG TAG G GC-CCGACGACG-3';下游引物P4:5'-CTAGATCT_{Bgl II} C₅₈₀₂TAGGCCGCCACATCTGAAAAAATAAGGG-3'。黑体字显示了在引物中引入的BamH I和Bgl II酶切位点,下标数字为相应碱基在原型HPV-6基因组中的位置(下同)。在微量离心管内建立如下PCR反应体系:模板DNA 3 μ l, 10 \times PCR缓冲液5 μ l,四种脱氧核糖核苷酸(每种为2.5 mmol/L)4 μ l,5'端和3'端引物各0.75 μ l(25 pmol/ μ l),Taq plus DNA聚合酶4U,补水至50 μ l,94℃预变性1 min,94℃变性50 s,55℃复性1 min,72℃延伸2 min,循环32次,最后72℃延伸5 min。

HPV-6 L1和L2基因的克隆与序列测定 将L1和L2基因PCR扩增产物与pGEM-T easy载体连接,转化大肠杆菌DH5 α ,经蓝白斑筛选,得到相应的重组质粒。提取重组质粒DNA,使用pGEM-T easy载体的通用引物sp6和T7,按DNA测序试剂盒使用说明进行测序反应,DNA测序仪为ABI 310和ABI 377。根据插入片段两端测序结果在L1和L2基因内部分别设计中间测序引物(5'-C₆₂₀₅AGGGTTA-ATGTAGGTATGGA₆₂₂₅-3'和5'-A₄₈₁₆CATCCTCTGAAA-CAACTACCC₄₈₃₇-3')继续测序,每次测序重复2至3次。

DNA片段回收,连接,转化,质粒提取,酶切,电泳鉴定等参照文献[2]。

结 果

HPV-6 L1和L2基因的扩增 对尖锐湿疣患者病变组织提取病毒DNA进行分型(结果未示),选择两例HPV-6型DNA[来自J(锦州)和X(新乡)样品]为模板,分别用引物对P1、P2和P3、P4扩增L1和L2基因,PCR扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳,可见分别扩增出大小约1.5 kb(图1,J1和X1)和1.4 kb(图1,J7和X7)的特异性片段,这

分别与已报道的 L1 和 L2 基因^[1] 大小相似。

PCR 扩增产物的酶切鉴定 对 PCR 扩增产物进行酶切鉴定, 结果如图 1。L1 PCR 扩增产物(约 1.5 kb) 经 Pst I 酶切后产生 0.7 kb 和 0.8 kb 大小的两个片段(J2 和 X2, 二者因为分子大小接近形成一条较宽的电泳条带); 经 Stu I 酶切后产生 1.2 kb 和 0.3 kb 两个片段(J3 和 X3)。L2 PCR 扩增产物(约 1.4 kb) 经 BamH I 酶切后产生 1.1 kb 和 0.3 kb 两个片段(J5 和 X5); 经 Pst I 酶切后产生 1.0 kb 和 0.4 kb 两个片段(J6 和 X6)。以上结果均与预期相符, 初步鉴定 PCR 扩增产物为目的片段。

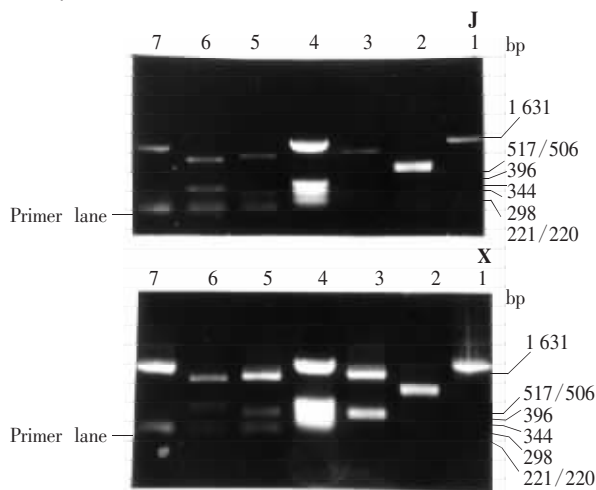


图 1 L1 和 L2 基因的 PCR 产物及产物的限制性内切酶分析

Fig 1 PCR products of L1 and L2 genes and restriction enzyme analysis of the products

- J1:L1 PCR product from J sample(referred to as JL1)
 X1:L1 PCR product from X sample(referred to as XL1)
 J2: JL1/Pst I X2:XL1/Pst I
 J3: JL1/Stu I X3:XL1/Stu I
 J4 and X4:pBR322/Hinf I DNA marker
 J5: JL2/BamH I X5:XL2/BamH I
 J6: JL2/Pst I X6:XL2/Pst I
 J7: L2 PCR product from J sample(referred to as JL2)
 X7: L2 PCR product from X sample(referred to as XL2)

克隆的 HPV-6 基因组晚期区的序列变异 将 L1 和 L2 基因 PCR 扩增产物重组到 pGEM-T easy 载

体, 得到相应的重组质粒 (pGEM-T-JL1、pGEM-T-JL2、pGEM-T-XL1 和 pGEM-T-XL2, 限于篇幅酶切鉴定未示), 经测序, 获得 L1 和 L2 基因的序列, 再拼接得到两条 HPV-6 基因组晚期区全长编码序列, 定名为 JL2+1 和 XL2+1, 分别来自于尖锐湿疣患者病变组织 J 和 X 样本。将克隆的两条尖锐湿疣组织标本来源的 HPV-6 基因组晚期区序列 (GenBank 序列索取号 AY015006, AY015008) 与原型 HPV-6b 序列^[1] 比较 (附表), 发现 L1 和 L2 ORF 中总共有 5 个共有的碱基变异, 并且都是同义突变, 余下 4 个错义突变中, 有 3 个在 L2 ORF, 1 个在 L1 ORF。与原型 HPV-6b^[1] 和 HPV-6a^[3] 对比, 通过分子系统发生分析 (DNASTAR, Jotun Hein Method) 进一步分型表明 JL2+1 和 XL2+1 属于 HPV-6b 亚型(图 2)。

附表 克隆的 HPV-6 基因组晚期区的序列变异总结

Table Summary of variations in the cloned HPV-6 genome late region

| | JL2+1 | XL2+1 |
|--|------------------------------|---|
| L2 coding sequence (4423→5802 in reference sequence) | | A ¹⁸¹ ₄₆₀₃ CG→GCG (Thr ⁶¹ →Ala) TCT ³⁰⁹ ₄₇₃₁ →TCC (Ser ¹⁰³ →Ser) G ⁷⁹⁶ ₅₂₁₈ AT→AAT (Asp ²⁶⁶ →Asn) |
| 1 380 bp long, encodes 459 amino acids | | CAG ⁹⁸⁴ ₅₄₀₆ →CAA (Gln ³²⁸ →Gln) CT ¹¹⁸⁷ ₅₆₀₉ G→CCG (Leu ³⁹⁶ →Pro) |
| L1 coding sequence (5789→7291 in reference sequence) | | TA ²⁰⁰ ₅₉₈₈ C→TGC (Tyr ⁶⁷ →Cys) ACA ⁸¹⁰ ₆₉₉₈ →ACT (Thr ²⁷⁰ →Thr) GAA ¹²⁹³ ₇₀₈₁ →GAG (Glu ⁴³¹ →Glu) |
| 1 503 bp long, encodes 500 amino acids | | AAG ¹³¹¹ ₇₀₉₉ →AAA (Lys ⁴³⁷ →Lys) |
| Total variation number | 6(5 synonymous+1 missense) | 8(5 synonymous+3 missense) |

Lower footnote number of base shows position in prototype genome sequence^[1], while upper footnote number indicates position relative to the first nucleotide in the corresponding ORF, and upper footnote number of amino acid shows position in the translated protein sequence

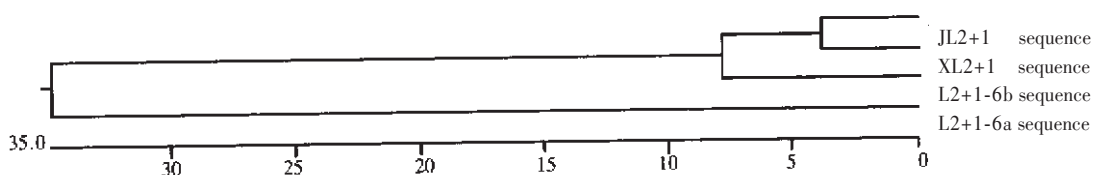


图 2 临床分离的 HPV-6 基因组晚期区序列与原型 HPV-6b 和 HPV-6a 的系统发生关系

Fig 2 Phylogenetic analysis(by Jotun Hein Method) of the clinical isolates of HPV-6 genome late region with prototype

HPV-6b and HPV-6a
 万方数据

讨 论

尖锐湿疣主要是由 HPV-6 和 (或) HPV-11 感染引起的上皮良性增生病变。国外资料表明约 90% 的尖锐湿疣患者感染 HPV-6 和 HPV-11, 其中以 HPV-6 为主^[4]。我国调查结果也表明引发尖锐湿疣的致病原主要是 HPV-6 和 HPV-11, 其中, 上海医科大学华山医院报道^[5] 单纯 HPV-6 感染占典型尖锐湿疣总数 ($n=17$) 的 82%, 单纯 HPV-11 感染占 6%, 二者混合感染占 12%; 协和医大基础所张明策等^[6] 的研究结果对应分别是 26%、56%、18% ($n=34$)。可见, 在我国引起尖锐湿疣的 HPV 型别有一定的地域分布差异。国内的 HPV 流行病学调查主要是根据特异 PCR 扩增片段长度和某一限制性内切酶识别位点的有无来鉴定和分型, 缺乏对我国分离 HPV 基因组和特定基因的序列信息。本文首次报道并分析了两例从我国尖锐湿疣患者病变组织分离的 HPV-6 基因组晚期区全长编码序列。

HPV 型别的划分是根据基因组序列的差异性, 而不是按经典的血清学分类。如果一种 HPV 基因组在 E6、E7、L1 ORF 的核苷酸序列与其它已知的 HPV 差异大于 10%, 则认为是新型; 同型内, 与标准序列差异在 0%~2% 的分离物被认为是变异体, 差异在 2%~10% 被认为是亚型。最早是根据 DNA 杂交和限制性多态结果判定^[7], 这种方法有很大局限性, 因为杂交得到的基因组相似性与真实得到的序列情况经常不一致。本研究根据 HPV 基因组中早期基因 E6、E7 之间的一段保守序列设计 HPV-6/11 特异性引物 5'-TGCTAATTCGCTGCTACCTG-3' 和 5'-GAGCTGTCTACTAATTGCTC-3', 经常规 PCR 反应, 再通过凝胶电泳观察 PCR 产物片段大小及产物中是否存在 Rsa I 酶切位点来鉴定和区分 HPV-6 和 HPV-11, 实验表明这种分型方法方便而有效, 但这种方法依赖于一定保守序列和限制性酶切位点的存在。笔者认为, 在已知序列的基础上应用一定算法对其进行系统发生分析, 得出该序列与已知 HPV 型别的亲缘关系, 从而进行型别划分与判定, 对于 HPV 的分型是比较可靠的。

HPV 基因组晚期区的功能是以其编码的主要衣壳蛋白 L1 和次要衣壳蛋白 L2 体现的, 二者的基因编码区 (CDS) 有 13 个碱基的重叠。利用这一特点, 本研究将 HPV-6 基因组晚期区的 L1 和 L2 两个 CDS 分别 PCR 扩增并克隆, 经测序、拼接得到 HPV-6 基

因组晚期区全长编码序列。这一设计的另一考虑是, 将晚期区所包含的两个部分重叠的 CDS 以各自完整的形式分别克隆入质粒载体中, 这就方便了进一步对 L1 和 L2 基因及其表达产物的生物学研究。

从克隆的两条 HPV-6 基因组晚期区序列中的 L1 和 L2 ORF 分别与原型序列比较结果 (附表) 可见一个明显特征: J (锦州) 和 X (新乡) 样本各有 5 个同义突变, 并且二者突变位置和突变方式完全一致。Caparros-Wanderley 等^[8] 通过对 HPV-6 L1 ORF 碱基变异情况筛查得出经常发生变异的位点划分为三个区域: R1 (nt5920-nt6075), R2 (nt6590-nt6670), R3 (nt7070-nt7230)。在本文报道的 L1 的三个同义突变中, 6598 位置的 ACA⁸¹⁰₆₅₉₈ → ACT 与 Caparros-Wanderley 报道的伦敦地区分离的 17 例中的 15 例一致, 处于该作者归纳的 R2 区; GAA¹²⁹³₇₀₈₁ → GAG 和 AAG¹³¹¹₇₀₉₉ → AAA 两处突变位于 R3 区, 在中未报道, 而在张明策等^[6] 的报道中有同样的发现, 可见, 这两个位置的变异可能在我国分离的 HPV-6 中具有代表性。X 样本 L1 ORF 的 5988 位错义突变 TA²⁰⁰₅₉₈₈ C → TGC (Tyr⁶⁷ → Cys) 位于 R1 区, 在 Caparros-Wanderley 的文章中也未见报道。此外, L2 ORF 中的两个共有的同义突变很可能也具有我国的区域特异性。在 J 和 X 样本 4 个错义突变中, 未见到共有突变, 要总结出变异倾向性需要扩大样本数, 同时, 每个错义突变对相应蛋白质功能的影响尚需深入研究。L1 和 L2 ORF (分别编码 459 和 500 氨基酸) 都很保守, J 样本中只有 1 个错义突变, X 样本中也仅有 3 个错义突变, 并且 L1 ORF 更为保守。HPV 衣壳是由 L1 和 L2 蛋白共同构成 (二者比例约为 30:1)。单独的 L1 蛋白在真核细胞中能够自发装配成直径与 HPV 成熟病毒大小相近 (约 55 nm) 的病毒样颗粒 (virus-like particle, VLP), 研究表明 L1 蛋白中的一个或几个氨基酸改变可能导致其不能有效组装成 VLP^[9], 从而可能影响在体内 HPV 成熟粒子的形成。L2 蛋白是将 HPV 基因组包装到病毒衣壳过程所必需的, 是感染性病毒粒子形成的必要条件。

总之, 本研究对我国尖锐湿疣患者病变组织分离的 HPV-6 基因组晚期区全长编码序列 (长 2 869 bp, 占 HPV-6 基因组约 35%, 包括 L1 和 L2 基因) 进行了报道分析, 其中 L2 基因序列的报道属首次, 同时分别克隆了 L1 和 L2 基因, 为进一步大样本的 HPV 分子流行病学调查、深入研究 L1 和 L2 蛋白功能、开发 HPV 疫苗、探讨基于 L1 或 L1+L2 蛋白装配形成的 VLP 作为基因转移装置的可能性奠定了基础。

参 考 文 献

- Schwarz E, Durst M, Demankowski C, *et al.* DNA sequence and genome organization of genital human papillomavirus type 6b. *EMBO J*, 1983, 2 (12):2341-2348
- 卢圣栋. 现代分子生物学实验技术. 北京: 高等教育出版社, 1993
- Hofmann KJ, Cook JC, Joyce JG, *et al.* Sequence determination of human papillomavirus type 6a and assembly of viruslike particles in *Saccharomyces cerevisiae*. *Virology*, 1995, 209 (2):506-518
- Shah KV, Howley PM. Papillomaviruses. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM. *Fields Virology*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996. 2077-2109
- 丁 强, 张元芳, 付 琳. PCR 在检测女阴尖锐湿疣 HPV DNA 的应用. *上海医学检验杂志*, 1996, 11 (2):91-92
- 张明策, 刘跃华, 刘世德, 等. 尖锐湿疣患者人乳头瘤病毒 6、11 型的检测及 L1 基因的序列分析. *中国医学科学院学报*, 2000, 22 (5):463-466
- Coggin JR, zur Hausen H. Workshop on papillomaviruses and cancer. *Cancer Res*, 1979, 9:545-546
- Caparros-Wanderley W, Savage N, Hill-Perkins M, *et al.* Intratype sequence variation among clinical isolates of the human papillomavirus type 6 L1 ORF: clustering of mutations and identification of a frequent amino acid sequence variant. *J Gen Virol*, 1999, 80 (Pt 4):1025-1033
- Kimbauer R, Taub J, Greenstone H, *et al.* Efficient self-assembly of human papillomavirus type 16 L1 and L1-L2 into virus-like particles. *J Virol*, 1993, 67 (12):6929-6936

(2001-04-28 收稿)

韩式神经电刺激镇痛仪与曲马多联合用于分娩镇痛

王稚晖[#] 胡绥苏 杨保军 石 杰

(首都医科大学附属北京天坛医院妇产科, 北京 100050)

关键词 分娩 韩式神经电刺激镇痛仪 曲马多

中图分类号 R714.7

随着围产医学的发展,分娩期保健日益受到重视。本研究探讨韩式神经电刺激镇痛仪(HANS)联合曲马多在分娩镇痛中的作用。将产程进入活跃期(宫口开大3cm)的90名单胎、头位、正常初产妇随机分为3组。A组:将HANS的两对电极片(4cm×9cm)分别对称贴于夹脊穴、次髂穴,刺激频率为2/100Hz交替,强度随产程进展逐渐增加,以孕妇最大耐受强度为限。同时肌注100mg曲马多。B组:放置HANS电极片,方法同A组,不通电,肌注100mg曲马多。C组:放置HANS电极片方法同A组,不通电。根据视觉模拟评分(VAS)及疼痛分级法,分别于镇痛前、镇痛后1h、第二产程时的宫缩间歇期,由专人对镇痛效果进行评定,并观察镇痛对产妇呼吸、循环产程与分娩、胎儿与新生儿的影响,以及镇痛的副反应。所得数据采用卡方检验、*t*检验进行统计学处理。结果:A组镇痛起效时间[(5.21±1.31)min]明显短于B组[(21.65±5.83)min]($P < 0.01$)。镇痛前3组VAS评分差异无显著性($P > 0.05$);镇痛后1h、A、B组VAS评分明显低于C组($P < 0.01$);第二产程时,A组

VAS评分低于C组($P < 0.01$),B组VAS评分升高,但与C组比较差异无显著性($P > 0.05$)。镇痛后1h,A组有效率86.67%,B组56.67%,差异有显著性($P < 0.05$);第二产程时,A组有效率63.33%,B组有效率明显下降(13.33%),与A组及镇痛后1h自身有效率比较,差异有显著性($P < 0.01$)。各产妇产在年龄、孕周、身高、体重以及新生儿出生体重等方面均无显著性差异($P > 0.05$)。在各阶段测定的产妇血压、心率、呼吸上,3组差异无显著性($P > 0.05$)。各组间在产程时间、催产素干预率、手术产率、产后出血、新生儿脐动脉血气分析、新生儿窒息发生率方面,差异亦无显著性($P > 0.05$)。除2例患者出现轻度嗜睡,1例出现轻度心慌、恶心,其余患者无主诉不适。

本研究表明,HANS与曲马多联合用于分娩镇痛是一种安全、有效的方法,优于单独使用曲马多。由于其价格低、使用方便,可推广使用。

(2001-08-16 收稿)

人乳头瘤病毒6型基因组晚期区序列分析

作者: [王淼](#), [张明策](#), [许雪梅](#), [陈连凤](#), [宋国兴](#)
作者单位: [中国医学科学院, 中国协和医科大学, 基础医学研究所生物物理室, 北京, 100005](#)
刊名: [中国医学科学院学报](#) **ISTIC PKU**
英文刊名: [ACTA ACADEMIAE MEDICINAE SINICAE](#)
年, 卷(期): 2001, 23(6)
被引用次数: 2次

参考文献(9条)

1. Schwarz E;Durst M;Demankowski C [DNA sequence and genome organization of genital human papillomavirus type 6b](#) 1983(12)
2. 卢圣栋 [现代分子生物学实验技术](#) 1993
3. Hofmann KJ;Cook JC;Joyce JG [Sequence determination of human papillomavirus type 6a and assembly of viruslike particles in Saccharomyces cerevisiae](#)[外文期刊] 1995(02)
4. Shah KV;Howley PM [Papillomaviruses](#) 1996
5. 丁强;张元芳;付琳 [PCR在检测女阴尖锐湿疣HPV DNA的应用](#) 1996(02)
6. 张明策;刘跃华;刘世德 [尖锐湿疣患者人乳头瘤病毒6、11型的检测及L1基因的序列分析](#)[期刊论文]-[中国医学科学院学报](#) 2000(05)
7. Coggin JR;zur Hausen H [Workshop on papillomaviruses and cancer](#) 1979(09)
8. Caparros-Wanderley W;Savage N;Hill-Perkins M [Intratype sequence variation among clinical isolates of the human papillomavirus type 6 L1 ORF:clustering of mutations and identification of a frequent amino acid sequence variant](#)[外文期刊] 1999(80)
9. Kirnbauer R;Taub J;Greenstone H [Efficient selfassembly of human papillomavirus type 16 L1 and L1-L2 into virus-like particles](#) 1993(12)

引证文献(2条)

1. 王淼. 陈连凤. 韩晔华. 邹宇宏. 霍淑敏. 司静懿. 宋国兴 [重组人乳头瘤病毒6型病毒样颗粒的免疫原性分析](#)[期刊论文]-[中华微生物学和免疫学杂志](#) 2003(2)
2. 王淼. 陈连凤. 许雪梅. 王立良. 陈建国. 刘士德. 司静懿. 宋国兴 [重组人乳头瘤病毒6型病毒样颗粒诱导中和抗体](#)[期刊论文]-[病毒学报](#) 2003(1)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgyxkxyxb200106009.aspx