

云南 HPV-16 型 E6、E7 基因的突变分析

张晓琳^{1,2}, 刘 峰³, 姚月婷^{1,2}, 李亚东^{1,2}, 周竞贤^{1,2},
易 力^{1,2}, 姚宇峰^{1,2}, 俞建昆^{1,2*}

(1. 中国医学科学院 & 北京协和医学院医学生物学研究所, 云南 昆明 650118; 2. 云南省重大传染病疫苗研发重点实验室, 云南 昆明 650118; 3. 武警云南省总队医院 检验科, 云南 昆明 650111)

摘 要 人乳头瘤病毒 (Human papillomavirus, HPV) 16 型 (HPV-16) 是引起宫颈癌的一种主要高危型病毒, 其 2 个致癌基因 E6 和 E7 的核酸序列变异可能会影响其对宿主细胞的致癌性, 已有研究表明其序列突变呈现地域差异性。因此, 研究不同地域 HPV-16 这 2 个基因的变化情况是宫颈癌流行病学调研的主要内容, 也可为研究 E6 和 E7 的致癌性积累数据。研究以 NCBI 登录号为 NC_001526.2 的 HPV-16 型病毒的序列为参照, 采用 Neighbor-joining 方法对云南地区 74 例 HPV-16 样本的 E6、E7 的 DNA 序列构建进化树, 结果显示: 只有亚洲和欧洲变异亚型, 而没有发现非洲 1、非洲 2、亚-美洲和北美洲这 4 种变异亚型。DNA 序列分析显示: E6 的碱基突变以 T178G (D25E, 59.46%) 和 T350G (L83V, 8.11%) 为主, E7 的碱基突变主要以 A647G (N29S, 59.46%) 和 T846C (同义突变, 60.81%) 为主。发现 E6 的新突变有 A95G (同义突变, 1.35%) 和 A135G (K11R, 1.35%); E7 的新突变有 C625T (L22F, 1.35%)、C627T (同义突变, 12.16%)、G689A (C43E, 1.35%)、T748G (S63A, 1.35%)。此外还发现有一个共突变现象: T178G (D25E, 59.46%) - A647G (N29S, 59.46%) - T843C (同义突变, 21.62%) - T846C (同义突变, 60.81%)。

关键词 HPV-16; E6 基因突变; E7 基因突变

中图分类号 Q754 文献标识码 A 文章编号 1005-7021(2014)02-0017-07
doi:10.3969/j.issn.1005-7021.2014.02.004

Mutational Analysis of HPV-16 Type E6, E7 Genes in Yunnan Province

ZHANG Xiao-lin^{1,2}, LIU Feng³, YAO Yue-ting^{1,2}, LI Ya-dong^{1,2}, ZHOU Jing-xian^{1,2},
YI Li^{1,2}, YAO Yu-feng^{1,2}, YU Jian-kun^{1,2}

(1. Inst. of Med. Biol., Chn. Acad. of Med. Sci. & Peking Union Med. Coll., Kunming 650118; 2. Yunnan Key Lab. of Vacc. R & D on Severe Infect. Dis.; 3. Dept. of Clin. Lab., Gen. Hosp. of Peoples' Armed Police Forces of Yunnan Prov., Kunming, 650111)

Abstract Human papillomavirus type 16 (HPV-16) is a high-risk major virus causing cervical cancer. Nucleic acid sequence variations of its oncogene E6 and E7 may have affected its host cells' carcinogenesis, and it had been studied that its variation assumes areal differences. Therefore, survey and analysis of the variations of these two oncogenic genes in different region is a main content of epidemiology of cervical cancer, and it can amass data associated the oncogenesis of E6 and E7. The DNA sequences of E6 and E7 genes of 74 cases of human papillomavirus 16 type (HPV-16) cases in Yunnan province were used to construct a phylogenetic tree respectively by using the Neighbor-joining method and the reference sequence of HPV-16 (NCBI accession number: NC_001526.2). The results showed that only Asian and European variant subtypes exist, but not any African type 1, African type 2, Asian-American and North-American variants were found. DNA sequence analysis showed that base mutation of E6 mainly was T178G

基金项目: 国家自然科学基金 (31270030) 和协和新星人才支持项目; 中央高校基本科研业务费专项资金资助 (2012N08); 云南省应用基础研究面上项目 (2010ZC232); 中国医学科学院病原生物学研究所基本科研业务费项目 (2012IPB107)

作者简介: 张晓琳 女, 硕士研究生。从事医学遗传学研究。Tel: 0871-65174912, E-mail: zxleary@gmail.com

* 通讯作者。男, 副研究员, 硕士生导师。从事医学遗传学研究。Tel: 0871-65174912, E-mail: yjk@imbcams.com.cn

收稿日期: 2013-10-30; 修回日期: 2013-12-06

(D25E, 59.46%) and T350G (L83V, 8.11%), while E7 genes mainly was A647G (N29S, 59.46%) and T846C (synonymous mutation, 60.81%). It was found that new mutations of E6 was A95G (synonymous mutation, 1.35%) and A135G (K11R, 1.35%), new mutations of E7 mutations was C625T (L22F, 1.35%), C627T (synonymous mutation, 12.16%), G689A (G43E, 1.35%) and T748G (S63A, 1.35%). In addition, a co-mutational phenomenon was also found: T178G (D25E, 59.46%) -A647G (N29S, 59.46%) -T843C (synonymous mutation, 21.62%) -T846C (synonymous mutation, 60.81%).

Keywords HPV-16; E6 gene mutation; E7 gene mutation

Harald zur Hausen 因发现人乳头状瘤病毒 (human papillomavirus) 为子宫颈癌的成因于 2008 年获得了诺贝尔奖。1985 年 Seedorf 等发表了 HPV-16 型的全基因组序列^[1], 其 NCBI 登录号为 NC_001526.2。HPV 病毒在 99.7% 宫颈癌患者中都可检测到^[2], 目前经过对 HPV 的基因组分离测序已经发现了 100 多个型^[3]。根据 HPV 不同型致癌危险程度不同, 可将 HPV 分为低危型和高危型 2 大类, HPV-16 型属于高危型, 在 ICC (invasive cervical carcinoma) 和 CIN (cervical intraepithelial neoplasia) I-III 患者中经常被检测到^[4]。E6 和 E7 是其 2 个致癌蛋白, 可以诱导感染病毒的细胞转化成浸润癌。已有的研究结果显示 HPV-16 型 E6 和 E7 基因的序列突变有地域性差别^[5], 根据 E6 基因片段的 DNA 序列可以把 HPV-16 型分成 6 个变异亚型: E 欧洲型、As 亚洲型、AA 亚美型、Af1 (非洲-1 型)、Af2 (非洲-2 型) 和 NA 北美型^[6]。本研究收集了来自中国云南不同地区的 HPV-16 型病例样本 74 例, 通过对 HPV-16 型的 2 个致癌基因 E6 和 E7 测序分析, 研究该地区 E6 和 E7 基因的变异情况和 HPV-16 型的变异亚型, 为研究适合中国人群的宫颈癌疫苗积累流行病学方面的相关资料。

1 材料与方法

1.1 标本来源和 HPV 分型检测

在知情同意的原则下, 本研究随机选取 2012 年 3 月至 2013 年 3 月来自昆明、曲靖、昭通、红河等地区市县级医院门诊、体检及住院女性。按照上海透景 HPV 分型试剂盒 (26 型) 使用说明书的要求, 用配套宫颈细胞刷采集宫颈上皮细胞后漂洗到细胞保存液中, 然后按照试剂盒说明书操作进行 DNA 制备和分型检测。

1.2 测序

从检测为 HPV-16 的样本中选取 80 例进行

E6 和 E7 基因的 DNA 序列检测。扩增 HPV-16 型 E6 和 E7 基因的引物分别为: E6F (nt52 ~ 575): 5'-CGAAACCGGTTAGTATAA-3', E6R: 5'-GTATCTCCATGCATGATT-3'; E7F (nt480 ~ 985): 5'-ATAATATAAGGGGTCGGTGG-3'; E7R: 5'-CATTTTCGTCTCTCGTCATCTG-3'^[7]。PCR 反应体积为 25 μ L, 其中宫颈组织 DNA 样品 2 μ L (25 ng/ μ L), TaKaRa Ex Taq DNA 聚合酶 (TaKaRa 公司) 0.625 U, 反应体系参照说明书。PCR 循环条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min, 35 个循环 (94 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 45 s), 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。PCR 产物条带在 2% 琼脂糖凝胶电泳上检测观察。阳性结果的样品送上海生工测序。对于发现突变的样本再次用 PCR 扩增目的片段并测序验证突变。最终有 6 例样本没有得到测序结果。

1.3 数据分析方法构建系统发生树

采用 Mega5.1 的 Neighbor-joining 方法对 74 个样本的 E6 基因的 456 bp (nt104 ~ nt559) DNA 片段序列和 E7 基因的 297 bp (nt562 ~ nt858) DNA 片段序列分别构建系统发生树 (靴值法 (Bootstrap method) 检验系统发生树, 重复数为 1 000)。HPV-16 型全基因组的参比序列及登录号如下^[8]: ①欧洲变异型: 德国变异型 (European German): AF_536179; ②亚洲变异型: 东亚变异型 (East Asian): AF_534061, 中国甘肃 (Gansu): EU_918764, 中国新疆 (Xinjiang): FJ_006723, 泰国 (Thailand): FJ_610152; ③亚洲美洲变异型: (Asian-American): AF_402678, 南美洲亚马逊 (Amazonian): HM_057182; ④非洲 1 型变异型: (African type1): AF_472508; ⑤非洲 2 型变异型: (African type2): AF_472509; ⑥北美变异型: (North-American): U34116, 由于其只含有 E6 基因序列^[9], 故用 E7DNA 序列构建的系统发生树不含此变异型。

2 结果与分析

2.1 E6 DNA 序列的亚型分类及碱基突变分析

2.1.1 依据 E6 的 DNA 序列的亚型分类 采用 Mega5.1 软件 Neighbor-joining 方法对 74 例 HPV-16 型样本的 E6 的 456 bp(nt104 ~ nt559)^[10] DNA 片段构建进化树。结果显示只有亚洲变异型(49 例,66.22%)和欧洲变异型(25 例,33.78%),没有发现非洲 1 型、非洲 2 型、亚-美型和北美变异型(图 1)。

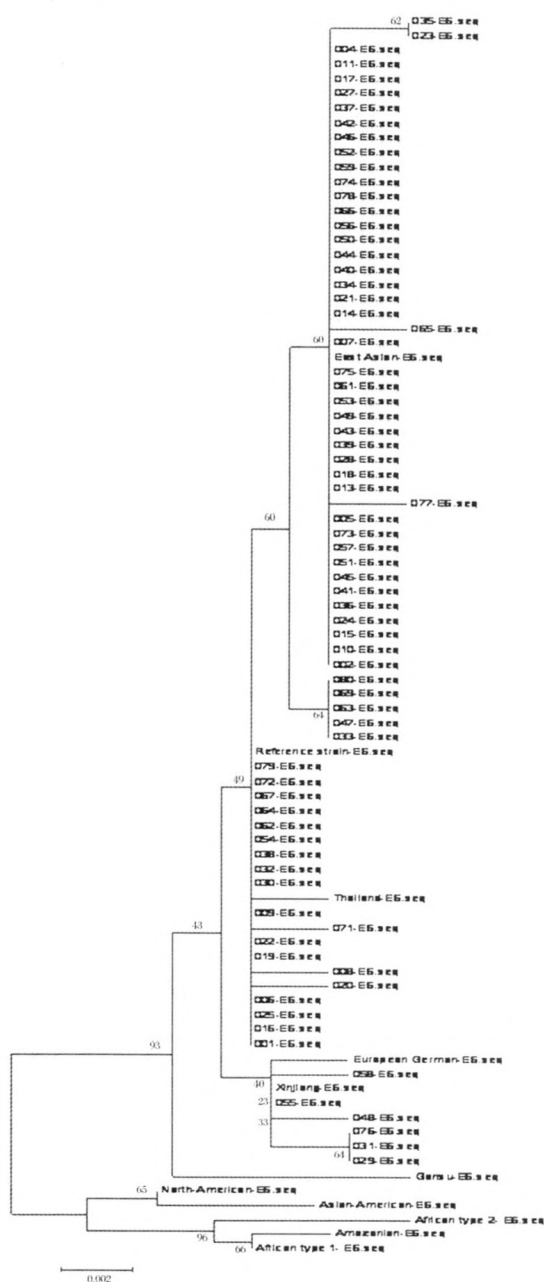


图 1 用 Mega5.1 软件 Neighbor-joining 方法对 E6 的 456 bp 片段构建进化树

Fig. 1 Phylogenetic tree constructed by using the 456 bp fragment of E6 gene

亚洲变异型在 178 位碱基处含有突变,含有 T178G 为 As-a 亚型,含有 T178A 为 As-b 亚型,含有 C178A 为 As-c 亚型^[11]。本研究发现 44 例 As-a 亚型,5 例 As-b 亚型,共 49 例亚洲突变型。欧洲变异型可根据 350 位点处的突变情况分成 E-T350 亚类、E-G350 亚类和 E-A350T 亚类 3 个亚类^[6];本研究发现有 6 例 E-T350G 亚类。

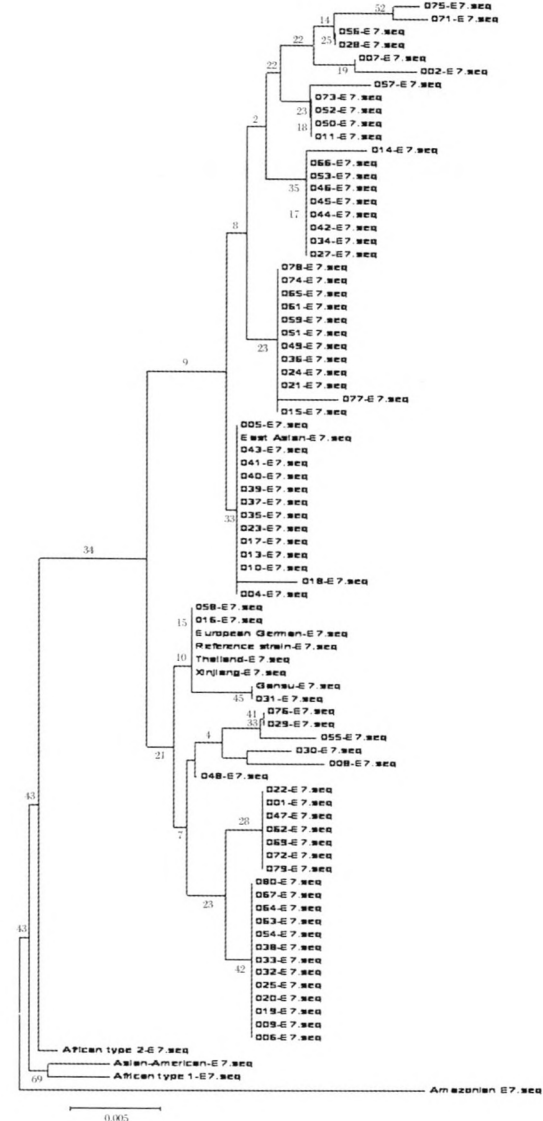


图 2 用 Mega5.1 软件 Neighbor-joining 方法对 E7 的 297 bp 片段构建进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree constructed by using the 297 bp fragment of E7 gene

2.1.2 E6 碱基突变分析 对 74 例样本的 E6 基因突变分析后共检测到 14 个碱基位点发生了 15 种碱基突变,导致了 10 种氨基酸突变。E6 的颠换突变(76.19%)远大于转换突变(23.81%),且

错义突变的比重较大(89.29%)(表1)。其中碱基突变概率最高的是 T178G(44 例,59.46%),导致了 44 例 D25E 氨基酸突变,该位点还有 5 例 T178A 碱基突变,也导致了 D25E 氨基酸突变,其突变率最高为 49 例,占 66.22%;另外,1 例 G176A 碱基突变导致了 1 例 D25N 突变。突变率较高的有:A276G(9 例,12.16%)碱基突变导致了 N58S 氨基酸突变;T350G(6 例,8.11%)碱基突变导致了 L83V 氨基酸突变。导致了氨基酸性质发生改变的突变共有 2 例:碱基位置 Q3E 和碱基位置 D25N(表2)。

2.2 E7 DNA 序列的亚型分类及碱基突变分析

2.2.1 依据 E7 的 DNA 序列的亚型分类 采用 Mega5.1 软件 Neighbor-joining 方法对 74 例 HPV-16 型样本的 E7 的 297 bp(nt562 ~ nt858)片段构建进化树,结果显示只有亚洲变异型(45 例,60.81%)和欧洲变异型(29 例,39.19%),没有发现非洲 1 型、非洲 2 型、亚-美型和北美变异型(图

2);这与 E6 进化树的结果一致。

2.2.2 E7 碱基突变分析 对 E7 基因突变分析共检测到 13 个碱基位点发生了 13 种突变,导致了 8 种氨基酸突变。E7 的转换突变(96.72%)远大于颠换突变(3.28%),且同义突变(50.27%)与错义突变(49.73%)概率基本相同(表1)。碱基突变率最高的是 T846C(45 例,60.81%),导致了同义突变;其次是 A647G(44 例,59.46%),导致了 N29S 氨基酸突变。另外,有 4 例样本发生 A646C 碱基突变,导致了 N29H 氨基酸突变;C749T(36 例,48.65%)碱基突变导致了 S63F 氨基酸突变。1 例样本有 T748G 碱基突变,导致了 S63A 氨基酸突变发生。G666A(21 例,28.38%)碱基突变导致了同义突变。此外,1 例样本同时发生 C625T 和 C627T 碱基突变,导致了 1 例 L22F 氨基酸突变。氨基酸性质发生改变的突变有(共 46 例):N29H(4 例)、G43E(1 例)、P47S(1 例)、S63F(36 例)、S63A(1 例)和 R71C(3 例)(表3)。

表 1 E6、E7 突变类型分析

Table 1 The types of E6 and E7 mutations

基因名称	项目	转换	颠换	同义突变	错义突变
E6	位点总数	6	8	3	11
	突变总数	20(23.81%)	64(76.19%)	9(10.71%)	75(89.29%)
E7	位点总数	10	3	5	8
	突变总数	177(96.72%)	6(3.28%)	92(50.27%)	91(49.73%)

表 2 E6 突变情况汇总表(n=74)

Table 2 The Mutations of E6 Gene (n=74)

基因组碱基位点	NC_001526.2 参比碱基	突变情况(样本个数)	突变率/%	三联碱基位点	氨基酸位点	NC_001526.2 参比氨基酸	突变氨基酸(样本个数)	氨基酸性质改变	氨基酸突变率/%
94	G	A(7)	9.46						
95	A	G(1)	1.35						
110	C	G(1)	1.35	110 ~ 112	3	Q	E(1)	0→负	1.35
131	A	C(1)	1.35	131 ~ 133	10	R	同义突变(1)		1.35
135	A	G(1)	1.35	134 ~ 136	11	K	R(1)	正→正	1.35
168	C	G(3)	4.05	167 ~ 169	22	T	S(3)	0→0	4.05
176	G	A(1)	1.35	176 ~ 178	25	D	N(1)	负→0	1.35
178	T	G(44), A(5)	59.46, 6.76	176 ~ 178	25	D	E(49)	负→负	66.22
185	T	G(2)	2.70	185 ~ 187	28	L	V(2)	非→非	2.70
241	T	G(1)	1.35	239 ~ 241	46	A	同义突变(1)		1.35
276	A	G(9)	12.16	275 ~ 277	58	N	S(9)	0→0	12.16
350	T	G(6)	8.11	350 ~ 352	83	L	V(6)	非→非	8.11
442	A	C(1)	1.35	440 ~ 442	113	E	D(1)	负→负	1.35
543	G	A(1)	1.35	542 ~ 544	147	R	K(1)	正→正	1.35

注:“非”代表非极性氨基酸;“0”代表极性不带电荷氨基酸;“负”代表极性带负电荷氨基酸;“正”代表极性带正电荷氨基酸,加粗倾斜字体表示氨基酸性质发生改变,表3同

表 3 E7 突变情况汇总表(n=74)

Table 3 The Mutations of E7 Gene (n=74)

基因组 碱基位点	NC_001526.2 参比碱基	突变情况 (样本个数)	突变率/%	三联碱 基位点	氨基酸 位点	NC_001526.2 参比氨基酸	突变氨基酸 (样本个数)	氨基酸 性质改变	氨基酸 突变率 /%
625	C	T(1)	1.35	625~627	22	L	F(1)	非→非	1.35
627	C	T(9)	12.16						
646	A	C(4)	5.41	646~648	29	N	H(4) S(44)	0→正 0→0	5.41 59.46
647	A	G(44)	59.46						
666	G	A(21)	28.38	664~666	35	E	同义突变 (21)		28.38
689	G	A(1)	1.35	688~690	43	G	E(1)	0→负	1.35
700	C	T(1)	1.35	700~702	47	P	S(1)	非→0	1.35
748	T	G(1)	1.35	748~750	63	S	A(1) F(36)	0→非 0→非	1.35 48.65
749	C	T(36)	48.65						
790	C	T(3)	4.05	790~792	77	R	C(3)	正→0	4.05
795	T	G(1)	1.35	793~795	78	T	同义突变 (1)		1.35
843	T	C(16)	21.62	841~843	94	C	同义突变 (16)		21.62
846	T	C(45)	60.81	844~846	95	S	同义突变 (45)		60.81

2.3 参考株、单位点和多位点突变分析

对 74 例样本 E6 和 E7 基因的 DNA 序列分析发现与参考株序列相同的病毒株都较少, E6 和 E7 分别为 6 例占 8.1% 和 2 例占 2.7%。E6 单位点突变(53 例, 71.6%) 超过半数, 多位点突变(15 例, 20.3%) 较少; E7 的情况则相反, E7 单位点突变较少(15 例, 20.3%), 多位点突变(57 例, 77%) 超过半数。对多位点突变的分析发现: 74 例样本中, 44 例样本同时含有 T178G(共 44 例)、A647G(共 44 例)、T846C 突变(共 45 例), 只有 1 例样本只含有 T846C 突变例外, 并且所有含有 T843C 突变的样本(共 16 例) 都含有 T178G、A647G、T846C 突变。此外, 所有含有 C627T 突变(共 9 例) 的样本都含有 C749T 突变。

3 讨论

本研究以 NCBI 登录号为 NC_001526.2 的 HPV-16 型病毒序列为参照, 发现 E6 的野生型(8.1%) 和 E7 的野生型(2.7%) 都较少, 这与对泰国 31 个样本分析发现 E6 的野生型(13%) 较少^[5] 的结果一致。在检测的 74 例样本中发现只有亚洲变异型和欧洲变异亚型, 未发现非洲 1、非洲 2、亚-美和北美变异亚型, 这与从新疆南部^[12]

和北京人群中得到的病毒样本^[13] 的结果一致。此外, 本文中发现的突变率较高的 G666A(21 例, 28.38%) 碱基突变在东北突变率为 38.46%, T846C(45 例, 60.81%) 碱基突变的突变率在北京^[13] 为 45.16%, 这提示在中国人群中的 HPV-16 型上这些位点的突变率都较高。

对于 E6 癌基因, 本研究以 HPV 基因组碱基 104 位处的 ATG 为起始密码子, 其共计编码 151 个氨基酸^[14], 可分为 E6 基因 N 端(1~79 氨基酸) 和 E6 基因 C 端(80~151 氨基酸) 两部分。Q3E、K11R、T22S、D25E、25N 和 L28V 这几种突变发生在 E6 的 N 端, 且 Q3E 和 D25N 氨基酸突变改变了氨基酸的性质, 这可能影响到 E6 * I(编码 41 个氨基酸) 的功能, E6 * I 是 E6 的一种剪接异构体可以抑制 E6 的作用^[15]。R147K 突变发生在 E6 的 C 端, 位于保守序列 143~151 内, 该保守序列 SRTRETQL 能与 PDZ 结构域(最早发现有此结构域的 PSD95、Dlg1 和 Zo-1 三个蛋白的首字母缩写) 相结合^[16-17], 该突变可能会影响 E6 蛋白与 PDZ 结构域相结合, 由于 E6 蛋白可以通过蛋白酶体, 将含有 PDZ 结构域的蛋白降解, 从而影响恶性肿瘤的发展进程^[18-19]。E6 有 4 个 Cys-x-x-Cys 模块(分别在 30~33、63~66、103~106

和 136 ~ 139 氨基酸位置上),即潜在的锌指结构,可以和 Zn^{2+} 结合^[20]。虽然本研究没有在锌指结构处发生突变,但是在锌指结构的链接处发现有 N58S、L83V、E113D 这 3 处氨基酸突变。

E7 蛋白可分为 1 区(1 ~ 15 位氨基酸)、2 区(16 ~ 37 位氨基酸)和比较保守的 3 区(38 ~ 98 位氨基酸)3 个区域。L22F 突变位于 E7 蛋白 2 区的 LXCXE 模序(22 ~ 26 位氨基酸)内,由于这一模块可以和 pRB(Retinoblastoma Protein)第 649 ~ 772 位氨基酸的口袋结构结合^[21-22],从而抑制 pRB 的作用,因此推测可能会影响 E7 与 pRB 的相互作用,进而影响细胞周期的调控。而 L22F、N29S、N29H 突变位于 21 ~ 34 氨基酸处,而该处恰是 E7 的主要抗原表位所在^[23],可能会影响 E7 蛋白的免疫原性。G43E、P47S、S63F、S63A、R77C 突变都发生了氨基酸性质的改变,且位于 E7 蛋白的比较保守的 3 区(38 ~ 98 氨基酸),这些突变也可能会影响 E7 的功能。3 区含有 2 个 Cys-X-X-Cys 模块(58 氨基酸处和 91 氨基酸处)即锌指结构,可与 Zn^{2+} 结合^[24-25],在锌指结构的链接处发现 S63A、S63F、R77C 氨基酸突变,并且这 3 个氨基酸突变都改变了氨基酸的性质,这有可能会影响 E7 与 Zn^{2+} 结合。

本研究发现很多单个病例的共同突变现象,如 44 例样本同时含有 T178G、A647G、T846C 突变,这个结果与熊光武等^[13]报道的 A647G 和 T846C 这 2 种突变都同时存在于同一个样本中一致。Vaeteewoottacharn. K. 发现 E6 中 90% 的 D25E(176 ~ 178 nt)突变与 E7 的 N29S(646 ~ 648 nt)一同出现^[5]。根据这些共突变情况,可以从已知的某个突变,来预测其他有共突变关系的碱基突变的发生。此外,日本的研究结果显示 HPV-16 型 E6 基因的 D25E 突变和人类白细胞抗原 HLA II 的 DRB1 * 1502 等位基因相关,由于 HLA II 是外源性抗原的递呈分子,因此推测该突变还可能是引发浸润癌和宫颈上皮内瘤的发生最重要的突变^[26]。在荷兰,有 L83V 突变的癌症病人 HLA DRB1 * 07 频率也增高($P = 0.08$)^[27],在瑞典、意大利、捷克也发现单倍体型 DR04-DQ03 与 L83V 突变相关^[28]。因此,推测该突变可能导致癌变的概率增加。所以对 HPV-16 型病毒的 E6、E7 基因突变情况的分析显得尤为重要,分析突变热点区

域和保守区域可为研究针对中国人群的宫颈癌疫苗提供一定的线索。

参考文献:

- [1] Seedorf K, Krammer G, Durst M, et al. Human papillomavirus type 16 DNA sequence[J]. Virology, 1985, 145(1): 181-185.
- [2] Walboomers J M M, Jacobs M V, Manos M M, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide[J]. Journal of Pathology, 1999, 189(1): 12-19.
- [3] Bernard H U. The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses[J]. Journal of Clinical Virology, 2005, 32: 1-6.
- [4] Zehbe I, Wilander E, Delius H, et al. Human papillomavirus 16 E6 variants are more prevalent in invasive cervical carcinoma than the prototype[J]. Cancer Research, 1998, 58: 829-833.
- [5] Vaeteewoottacharn K, Jearanaikoon P, Ponglikitmongkol M. Co-mutation of HPV16 E6 and E7 genes in Thai squamous cervical carcinomas [J]. Anticancer Research, 2003, 23: 1927-1932.
- [6] Yamada T, Manos M M, Peto J, et al. Human papillomavirus type 16 sequence variation in cervical cancers: a Worldwide Perspective[J]. Journal of Virology, 1997, 71(3): 2463-2472.
- [7] Zehbe I, Tachezy R, Mytilineos J, et al. Human papillomavirus 16 E6 polymorphisms in cervical lesions from different European populations and their correlation with human leukocyte antigen class II haplotypes[J]. International Journal of Cancer, 2001, 94(5): 711-716.
- [8] 杨丽娟, 岳耀斐, 陈俊英, 等. 云南省人乳头状瘤病毒 16 型 E6/E7 基因的变异分析[J]. 病毒学报, 2012, 28(6): 645-651.
- [9] Chaudhary D K, Mani I, Singh V. Comparative structural and functional analysis of E6 oncogene of human papillomavirus type 16[J]. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology, 2012, 3(4): 439-450.
- [10] Cornet I, Gheit T, Franceschi S, et al. Human Papillomavirus type 16 genetic variants: phylogeny and classification based on E6 and LCR[J]. Journal of Virology, 2012, 86(12): 6855-6861.
- [11] Antonio H S, Diana C. MG, Pablo M, et al. E6 molecular variants of human papillomavirus (HPV) type 16: An updated and unified criterion for clustering and nomenclature[J]. Virology, 2011, 410(1): 201-215.
- [12] 李清阳, 玛依努尔·尼亚孜, 阿不力孜. 新疆南部维吾尔族妇女宫颈癌及癌前病变 HPV16 E6/E7 基因突变序列分析[J]. 现代妇产科进展, 2009, 18(11): 851-854.
- [13] Xiong G W, Yuan Y, Li M, et al. Human papillomavirus type

- 16 variant analysis of upstream regulatory region and E6, E7 oncogene from cervical cancer patients in Beijing[J]. *Hereditas (Beijing)*, 2010, 32(4):339-347.
- [14] Elliot J A, Nancy L H, John T S, et al. Identification of the HPV-16 E6 protein from transformed mouse cells and human cervical carcinoma cell lines[J]. *The EMBO Journal*, 1987, 6(4):989-992.
- [15] Vaeteewoottacharn K, Chamutpong S, Ponglikitmongkol M, et al. Differential localization of HPV16 E6 splice products with E6-associated protein[J]. *Virology Journal*, 2005, 2(1):50.
- [16] Jaulin-Bastard F, Saito H, Bivic A L, et al. The ERBB2/HER2 receptor differentially interacts with ERBIN and PICK1 PSD-95/DLG/ZO-1 domain proteins[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2001, 276(18):15256-15263.
- [17] Thomas M, Richard L, Karin H, et al. Oncogenic human papillomavirus E6 proteins target the MAGI-2 and MAGI-3 proteins for degradation[J]. *Oncogene*, 2002, 21:5088-5096.
- [18] Massimi P, Gammoh N, Thomas M, et al. HPV E6 specifically targets different cellular pools of its PDZ domain-containing tumour suppressor substrates for proteasome-mediated degradation[J]. *Oncogene*, 2004, 23(49):8033-8039.
- [19] Simonson S J S, Difilippantonio M J, Lambert P F. Two distinct activities contribute to human papillomavirus 16 E6's oncogenic potential[J]. *Cancer Research*, 2005, 65(18):8266-8273.
- [20] Barbosa M S, Lowy D R, Schiller J T. Papillomavirus polypeptides E6 and E7 are Zinc-binding proteins[J]. *Journal Of Virology*, 1989, 63(3):1404-1407.
- [21] Munger K, Werness B A, Dyson N, et al. Complex formation of human papillomavirus E7 proteins with the retinoblastoma tumor suppressor gene product[J]. *The EMBO Journal*, 1989, 8(13):4099-4105.
- [22] Stirdivant S M, Ahern J D, Oliff A, et al. Retinoblastoma protein binding properties are dependent on 4 cysteine residues in the protein binding pocket[J]. *The Journal Of Biological Chemistry*, 1992, 267(25):14846-14851.
- [23] Steven A J, Yu X P, Janette M V, et al. Characterization of human Antibody-reactive epitopes encoded by human papillomavirus types 16 and 18[J]. *Journal OF Virology*, 1991, 65(3):1208-1218.
- [24] Ohlenschläger O, Seiboth T, Zengerling H, et al. Solution structure of the partially folded high-risk human papilloma virus 45 oncoprotein E7[J]. *Oncogene*, 2006, 25(44):5953-5959.
- [25] William C P, Karl M, Garole L Y. Structure-function analysis of the human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein[J]. *Journal of virology*, 1992, 66(4):2418-2427.
- [26] Matsumoto K, Yasugi T, Nakagawa S, et al. Human papillomavirus type 16 E6 variants and HLA class II alleles among Japanese women with cervical cancer[J]. *International Journal of Cancer*, 2003, 106(6):919-922.
- [27] Hetty J B, Mark V D, Tanja D D G. HPV 16 infection and progression of cervical intra-epithelial neoplasia: Analysis of HLA polymorphism and HPV 16 E6 sequence variants[J]. *International Journal of Cancer*, 1998, 78:166-171.
- [28] Ingeborg Z, Ruth T, Joannis M, et al. Human papillomavirus 16 E6 polymorphisms in cervical lesions from different European populations and their correlation with human leukocyte antigen class II haplotypes[J]. *International Journal of Cancer*, 2001, 94:711-716.

欢迎订阅《微生物学杂志》

作者: 张晓琳, 刘峰, 姚月婷, 李亚东, 周竞贤, 易力, 姚宇峰, 俞建昆
作者单位: 张晓琳, 姚月婷, 李亚东, 周竞贤, 易力, 姚宇峰, 俞建昆(中国医学科学院&北京协和医学院医学生物学研究所, 云南昆明 650118; 云南省重大传染病疫苗研发重点实验室, 云南昆明650118), 刘峰(武警云南省总队医院检验科, 云南昆明, 650111)
刊名: 微生物学杂志 ISTIC
英文刊名: Journal of Microbiology
年, 卷(期): 2014, 34(2)

参考文献(28条)

1. Seedorf K; Krammer G; Durst M Human papillomavirus type 16 DNA sequence 1985(01)
2. Walboomers J M M; Jacobs M V; Manos M M Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide 1999(01)
3. Bernard H U The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses 2005
4. Zehbe I; Wilander E; Delius H Human papillomavirus 16 E6 variants are more prevalent in invasive cervical carcinoma than the prototype 1998
5. Vaeteewoottacharn K; Jearanaikoon P; Ponglikitmongkol M Co-mutation of HPV16 E6 and E7 genes in Thai squamous cervical carcinomas 2003
6. Yamada T; Manos M M; Peto J Human papillomavirus type 16 sequence variation in cervical cancers: a Worldwide Perspective 1997(03)
7. Zehbe I; Tachezy R; Mytilineos J Human papillomavirus 16 E6 polymorphisms in cervical lesions from different European populations and their correlation with human leukocyte antigen class II haplotypes 2001(05)
8. 杨丽娟; 岳耀斐; 陈俊英 云南省人乳头状瘤病毒16型E6/E7基因的变异分析 2012(06)
9. Chaudhary D K; Mani I; Singh V Comparative structural and functional analysis of E6 oncogene of human papillomavirus type 16 2012(04)
10. Cornet I; Gheit T; Franceschi S Human Papillomavirus type 16 genetic variants: phylogeny and classification based on E6 and LCR 2012(12)
11. Antonio H S; Diana C. M G; Pablo M E6 molecular variants of human papillomavirus (HPV) type 16: An updated and unified criterion for clustering and nomenclature 2011(01)
12. 李清阳; 玛依努尔·尼亚孜; 阿不力孜 新疆南部维吾尔族妇女宫颈癌及癌前病变HPV16 E6/E7基因突变序列分析 2009(11)
13. Xiong G W; Yuan Y; Li M Human papillomavirus type 16 variant analysis of upstream regulatory region and E6, E7 oncogene from cervical cancer patients in Beijing 2010(04)
14. Elliot J A; Nancy L H; John T S Identification of the HPV-16 E6 protein from transformed mouse cells and human cervical carcinoma cell lines 1987(04)
15. Vaeteewoottacharn K; Chamutpong S; Ponglikitmongkol M Differential localization of HPV16 E6 splice products with E6-associated protein 2005(01)
16. Jaulin-Bastard F; Saito H; Bivic A L The ERBB2/HER2 receptor differentially interacts with ERBIN and PICK1 PSD-95/DLG/ZO-1 domain proteins 2001(18)
17. Thomas M; Richard L; Karin H Oncogenic human papillomavirus E6 proteins target the MAGI-2 and MAGI-3 proteins for degradation 2002
18. Massimi P; Gammoh N; Thomas M HPV E6 specifically targets different cellular pools of its PDZ domain-containing tumour suppressor substrates for proteasome-mediated degradation 2004(49)
19. Simonson S J S; Difilippantonio M J; Lambert P F Two distinct activities contribute to human papillomavirus 16 E6's oncogenic potential 2005(18)

20. [Barbosa M S;Lowy D R;Schiller J T Papillomavirus polypeptides E6 and E7 are Zinc-binding proteins](#) 1989(03)
21. [Munger K;Werness B A;Dyson N Complex formation of human papillomavirus E7 proteins with the retinoblastoma tumor suppressor gene product](#) 1989(13)
22. [Stirdivant S M;Ahem J D;Oliff A Retinoblastoma protein binding properties are dependent on 4 cysteine residues in the protein binding pocket](#) 1992(25)
23. [Steven A J;Yu X P;Janette M V Characterization of human Antibody-reactive epitopes encoded by human papillomavirus types 16 and 18](#) 1991(03)
24. [Ohlenschl\(a\)ger O;Seiboth T;Zengerling H Solution structure of the partially folded high-risk human papilloma virus 45 oncoprotein E7](#) 2006(44)
25. [William C P;Karl M;Garole L Y Structure-function analysis of the human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein](#) 1992(04)
26. [Matsumoto K;Yasugi T;Nakagawa S Human papillomavirus type 16 E6 variants and HLA class II alleles among Japanese women with cervical cancer](#) 2003(06)
27. [Hetty J B;Mark V D;Tanja D D G HPV 16 infection and progression of cervical intra-epithelial neoplasia:Analysis of HLA polymorphism and HPV 16 E6 sequence variants](#) 1998
28. [Ingeborg Z;Ruth T;Joannis M Human papillomavirus 16 E6 polymorphisms in cervical lesions from different European populations and their correlation with human leukocyte antigen class II haplotypes](#) 2001

引用本文格式: [张晓琳. 刘峰. 姚月婷. 李亚东. 周竞贤. 易力. 姚宇峰. 俞建昆 云南HPV-16型E6、E7基因的突变分析\[期刊论文\]-微生物学杂志](#) 2014(2)