

- 6 Huang G, Chen H, Dong Y, *et al.* Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: amplifying ROS stress to improve anticancer drug efficacy[J]. *Theranostics*, 2013, 3(2): 116 – 126
 - 7 Barhoumi L, Dewez D. Toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles on green Alga *Chlorella vulgaris*[J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 647974
 - 8 Gu J, Xu H, Han Y, *et al.* The internalization pathway, metabolic fate and biological effect of superparamagnetic iron oxide nanoparticles in the macrophage – like RAW264.7 cell[J]. *Sci China Life Sci*, 2011, 54(9): 793 – 805
 - 9 Qu B, Al – Ansary D, Kummerow C, *et al.* ORAI – mediated calcium influx in T cell proliferation, apoptosis and tolerance[J]. *Cell Calcium*, 2011, 50(3): 261 – 269
 - 10 Fracchia KM, Pai CY, Walsh CM. Modulation of T cell metabolism and function through calcium signaling[J]. *Front Immunol*, 2013, 4: 324 – 332
 - 11 Lewis RS. Calcium signaling mechanisms in T lymphocytes[J]. *Annu Rev Immunol*, 2001, 19: 497 – 521
 - 12 Baran I, Ganea C. RyR3 in situ regulation by Ca^{2+} and quercetin and the RyR3 – mediated Ca^{2+} release flux in intact Jurkat cells[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2013, 540(1 – 2): 145 – 159
 - 13 Pang B, Shin DH, Park KS, *et al.* Differential pathways for calcium influx activated by concanavalin A and CD3 stimulation in Jurkat T cells[J]. *Pflugers Arch*, 2012, 463(2): 309 – 318
- (收稿日期:2014 – 10 – 08)
(修回日期:2014 – 10 – 16)

热休克蛋白 HSP90 α 和 miRNA – 144 在小鼠肾缺血再灌注损伤后的表达变化

孔晓君 韩俊岭 高 鑫 李建远

摘 要 **目的** 研究小鼠肾缺血再灌注后不同时间点热休克蛋白 HSP90 α 和 miRNA – 144 的表达变化。**方法** 用动脉夹夹闭小鼠双侧肾蒂 45min 建立肾缺血再灌注损伤模型,测定再灌注 4、8、12、24、48h 组及假手术组血清中肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)水平,光镜下观察肾组织形态学改变,采用定量 RT – PCR 的方法检测肾缺血再灌注各时间点 HSP90 α mRNA 和 miRNA – 144 的表达变化,Western blot 法检测 HSP90 α 蛋白的表达变化。**结果** HE 染色显示假手术组小鼠的肾组织结构及肾功能正常,再灌注组可见肾小管管腔扩张,肾小管上皮细胞有不同程度的肿胀、坏死、刷状缘消失,管腔内有管型,肾间质充血水肿,组织损伤以 24h 最重;肾功能指标显示再灌注组与假手术组相比,Scr、BUN 水平随再灌注时间延长而升高,24h 达峰值($P < 0.01$)。定量 RT – PCR 和 Western blot 法检测结果显示,再灌注 4h 后 HSP90 α 的 mRNA 和蛋白表达开始逐渐增强,mRNA 在 12h 达高峰,蛋白水平在 24h 达高峰($P < 0.01$);miRNA – 144 在再灌注后表达降低($P < 0.01$)。**结论** HSP90 α 在缺血再灌注损伤的肾组织中表达增高,提示其可能参与肾缺血再灌注损伤的保护作用;miRNA – 144 可能为调控 HSP90 α 功能的潜在 miRNA。

关键词 热休克蛋白 HSP90 α miRNA – 144 肾缺血再灌注损伤

中图分类号 R692 **文献标识码** A **DOI** 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.03.009

Expression Level of HSP90 α and miRNA – 144 after Renal Ischemia Reperfusion Injury in Mice. Kong Xiaojun, Han Junling, Gao Xin, *et al.* Department of Laboratory Medicine, Ningxia Medical University, Ningxia 750004, China

Abstract Objective To investigate the expression changes of heat shock protein 90 α (HSP90 α) and miRNA – 144 in mouse kidneys at different time points after ischemia reperfusion. **Methods** Mice renal ischemia reperfusion injury models were established by clamping bilateral renal artery for 45 minutes. The level of Scr and BUN in reperfusion 4h, 8h, 12h, 24h, 48h group and the sham group was detected. Morphology changes of the renal with the light microscope was observed. The mRNA expression levels of HSP90 α and miRNA – 144 were evaluated by reverse transcription – polymerase chain reaction (RT – PCR). Western blot was performed to examine the expressions of proteins for HSP90 α . **Results** HE staining indicated that the histological and renal function of sham group were normal. The pathological change of ischemia reperfusion group was most serious in 24h group, including tubular dilatation, epithelial cell necrosis, loss of brush border, luminal obstruction, interstitial hyperemia and edema. The levels of Scr, BUN in reperfusion group were gradually in-

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31071262)

作者单位:750004 银川,宁夏医科大学检验学院(孔晓君);225300 江苏省泰州人民医院检验科(韩俊玲);260045 烟台大学(高鑫);山东毓璜顶医院中心实验室(李建远)

通讯作者:李建远,电子邮箱:sdscli@126.com

creased along with the reperfusion time extending and reached its high level at 24h ($P < 0.01$). HSP90 α mRNA and protein level increased at 4h of reperfusion, peaked at 12h and 24h of reperfusion, respectively ($P < 0.01$). miRNA - 144 was down - regulated after ischemia reperfusion ($P < 0.01$). **Conclusion** The expression of HSP90 α is increased after renal ischemia reperfusion injury and may exert protective effects. miRNA - 144 is more likely the potential miRNA which might regulate HSP90 α function.

Key words Heat shock protein; HSP90 α ; miRNA - 144; Renal ischemia reperfusion

肾缺血再灌注损伤是一个常见的临床问题,也是造成急性肾衰竭和移植肾功能延迟恢复的主要原因之一。其损伤机制还未完全明确,主要涉及活性氧的释放、炎性因子的释放,细胞凋亡等^[1,2]。热休克蛋白是保护性蛋白家族,构成内源性细胞防御机制来抵抗敌对的环境压力,在缺氧、缺血、炎症等压力刺激下可以诱导表达,按相对分子质量大小主要分为 HSP100、HSP90、HSP70、HSP60。HSP90 在多种生物均有表达,在正常情况下占胞质蛋白的 1% ~ 2%,是最丰富的胞质蛋白之一^[3]。真核生物中 HSP90 主要有 HSP90 α 、HSP90 β 两种亚型。HSP90 α 能够通过调控各种细胞因子和客户蛋白的折叠而起到保护细胞的作用。微小 RNA (miRNA) 为长度 18 ~ 25nt 的非编码单链低分子 RNA,能够在转录前水平调控基因的表达,介导靶 mRNA 降解或抑制蛋白翻译^[4]。笔者利用生物信息学预测出 miRNA - 144 为调控 HSP90 α 功能的潜在 miRNA,然后通过定量 RT - PCR 和 Western blot 法检测 HSP90 α 和 miRNA - 144 在肾缺血再灌注不同时间点的表达情况,初步探讨 miRNA - 144 和 HSP90 α 在肾缺血再灌注损伤中的调控作用及机制。

材料与方法

1. 动物及模型制备:成年雄性昆明白小鼠,体重 30 ~ 40g,由滨州医学院动物实验中心提供。随机分成:①缺血再灌注 (IR) 组 ($n = 40$, 每组 8 只);②假手术组 ($n = 40$, 每组 8 只)。小鼠用氯胺酮/甲苯噻嗪 (80/10mg/kg) 腹腔麻醉,充分暴露手术视野固定,乙醇消毒手术部位,腹部正中切口后分离左右肾蒂,用无损血管夹夹闭左右肾蒂,肉眼观察肾脏变黑说明夹闭成功,45min 后松开血管夹,几分钟后肾脏变粉红,说明再灌注成功。假手术组只分离左右肾蒂,不夹闭。IR 组和假手术组分别在术后 4、8、12、24、48h 下腔静脉取血分离血清,取少量肾组织 Bouin 氏液固定,用于病理检查,剩余肾组织于 -80℃ 保存。

2. 主要试剂:HE 试剂盒购自碧云天生物技术有限公司;RNAiso Plus 购自 TaKaRa 公司;ReverTra Ace 反转录酶购自 Toyobo 公司;Platinum[®] SYBR[®] Green qPCR SuperMix - UDG 反应试剂盒购自 Invitrogen 公司;RIPA 裂解液和 BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自烟台赛尔生物技术有限公司;ECL 购自 Thermo 公司;HSP90 α 抗体和 β - actin 抗体购自 Santa Cruz 公

司;辣根酶标记的山羊抗兔 IgG 购自中杉金桥公司;所用引物由上海生工生物工程有限公司合成 (表 1)。

表 1 引物序列

基因名	引物	引物序列 (5'→3')
HSP90 α	上游	GACGAGATGCTTCTCTGAAGG
	下游	CTTCAGCTGTTGCACACAATAC
GAPDH	上游	TGTGTCCGTCGTGGATCTGA
	下游	TTGCTGTTGAAGTCGCAGGAG
U6	上游	CTCGCTTCGGCAGCAC
	下游	AACGCTTCACGAATTTGCGT
miRNA - 144	上游	ACACTCCAGCTGGGTACAGTATAGATGATGTAC
	下游	TGCTGTCGTGGAGTCG
	逆转	CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAA
		TTCACTTGAGACTACAT

3. 生化指标检测:应用美国德灵 Dimension RXL Max 全自动生化分析仪测定血清中肌酐 (Scr)、尿素氮 (BUN) 水平。

4. 组织学评价:小鼠肾组织于 Bouin 氏液固定 24h,常规石蜡包埋,切片 4 μ m,脱蜡水化后用 HE 试剂盒染色,光镜下观察肾脏的组织形态变化。

5. miRNA 预测:笔者联合使用 TargetScan (<http://www.targetscan.org/>) 和 miRanda (<http://www.microrna.org/microrna/home.do>) 两个预测软件同时预测调控 HSP90 α 功能的潜在的 miRNA 分子。取 TargetScan 和 miRanda 共同预测到的 miRNA 即 miRNA - 144 进行下一步研究。

6. 荧光定量 RT - PCR:IR 组和假手术组各个时间点的肾组织分别混合后用 RNAiso Plus 提取 RNA。1 μ g RNA 用 ReverTra Ace 反转录酶逆转。荧光定量 PCR 按照 Platinum[®] SYBR[®] Green qPCR SuperMix - UDG 反应试剂盒的产品说明进行反应,反应体系为: cDNA 1 μ l, 上游引物 (10 μ mol/L) 0.6 μ l, 下游引物 (10 μ mol/L) 0.6 μ l, SYBR mix 10 μ l, dd H₂O 8 μ l。使用 Rotor - Gene Q 进行荧光定量 PCR 检测,反应条件为:50℃ 2min, 95℃ 5min, 95℃ 10s, 60℃ 45s, 40 个循环。运用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法来计算样本中 mRNA 表达水平的差异。所有的实验重复 3 次。 $\Delta\Delta Ct = [Ct(\text{实验组目标基因}) - Ct(\text{实验组内参基因})] - [Ct(\text{对照组目标基因}) - Ct(\text{对照组内参基因})]$ 。mRNA 选用 GAPDH 作为内参基因,miRNA 选用 U6 作为内参基因。

7. Western blot 法分析:用 RIPA 裂解液提取蛋白样品,BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。电泳转硝酸纤维素

膜上,用 HSP90α 抗体(1:1000)和 β-actin 抗体(1:1500)4℃ 摇床孵育过夜,清洗。辣根酶标记的山羊抗兔 IgG(1:5000) 37℃ 孵育 1h,清洗。ECL 显色,扫描后,利用 Gene Tools image analysis 软件(Gene Tools, version 4.02; Syngene, Cambridge, UK)测定条带灰度值,目标条带与 β-actin 的比值作为表达强度。

8. 统计学方法:采用 SPSS 13.0 统计软件处理数据,所有数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间样本均数比较采用 *t*

检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 肾组织形态学变化:HE 染色可见假手术组肾小管排列整齐紧密,而 IR 组肾小管排列紊乱,管腔扩张;肾小管上皮细胞扁平,部分肿胀、坏死、脱落,刷状缘消失;管腔内可见管型;肾间质减少、充血,以再灌注 24h 组组织损伤最严重(图 1)。

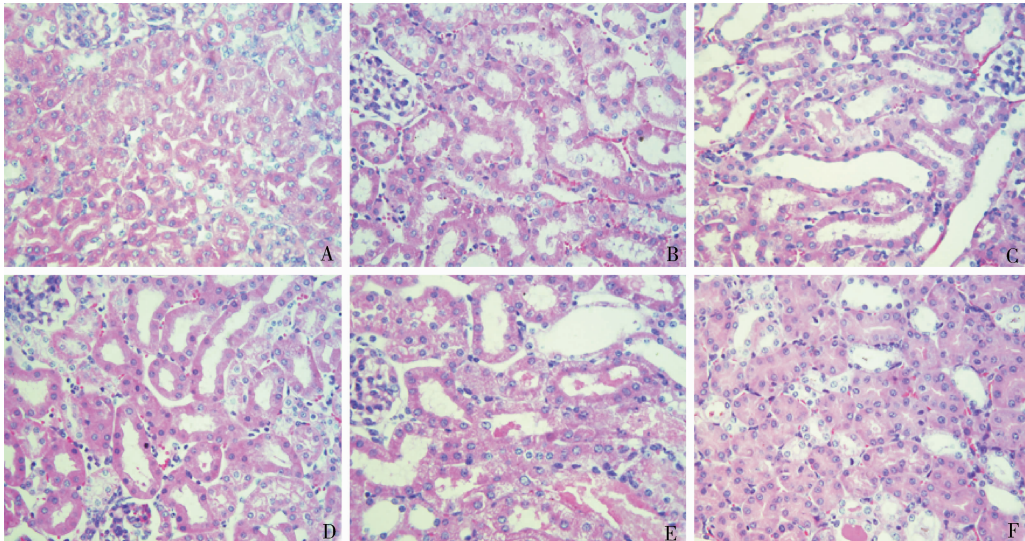


图 1 各组肾组织形态学变化(HE, ×400)
A. 假手术组;B. 4h 再灌注组;C. 8h 再灌注组;D. 12h 再灌注组;E. 24h 再灌注组;F. 48h 再灌注组

2. 肾功能指标变化:假手术组和 IR 组在再灌注 4、8、12、24、48h 后血清中 Scr 和 BUN 的变化,结果见表 2 和表 3。与假手术组相比,IR 组的 Scr 和 BUN 在

4h 时开始增高,24h 时达高峰,48h 有所下降,*P* 均 < 0.01 为差异有统计学意义。

表 2 小鼠肾缺血再灌注后各组各时相肌酐水平的变化(μmol/L, $\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	4h	8h	12h	24h	48h
假手术组	20.15 ± 6.15	21.09 ± 5.98	23.78 ± 6.78	22.18 ± 5.78	23.28 ± 4.38
IR 组	75.45 ± 8.658	82.95 ± 7.64	100.15 ± 9.13	153.78 ± 6.34	87.13 ± 5.35
<i>t</i>	14.73	18.10	18.99	43.39	26.12
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

表 3 小鼠肾缺血再灌注后各组各时相尿素氮水平的变化(mmol/L, $\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	4h	8h	12h	24h	48h
假手术组	7.45 ± 4.62	8.01 ± 6.92	6.78 ± 5.73	7.18 ± 3.42	7.63 ± 4.32
IR 组	29.37 ± 7.14	34.55 ± 7.23	42.16 ± 6.04	60.87 ± 5.02	39.75 ± 6.89
<i>t</i>	7.29	7.50	12.03	25.00	11.17
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

3. 肾缺血再灌注后肾组织中 HSP90α mRNA 和 miRNA-144 的表达变化:缺血再灌注 4、8、12、24、48h 时间点的 HSP90α mRNA 相对于各自的假手术组

表达量分别为 1.20 ± 0.16、1.81 ± 0.16、2.64 ± 0.17、2.51 ± 0.11、1.66 ± 0.17,缺血再灌注组相对假手术组表达明显升高,且在 12h 组表达增加 2.64 倍(*P* <

0.01), 增加倍数最多, 48h 有所降低但仍高于假手术组, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 2)。缺血再灌注 4、8、12、24、48h 时间点的 miRNA-144 相对于各自的假手术组表达量分别为 0.45 ± 0.08 、 0.41 ± 0.08 、 0.35 ± 0.09 、 0.29 ± 0.07 、 0.38 ± 0.06 , 与假手术组相比较, IR 组均表达降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 3)。

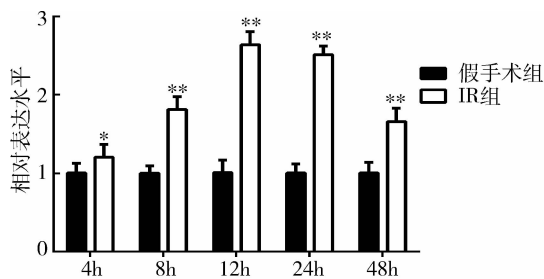


图 2 肾缺血再灌注后 HSP90α 的 mRNA

在不同时间点的表达变化

与假手术组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

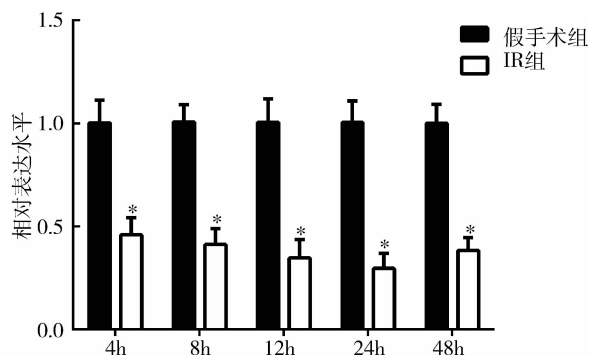


图 3 肾缺血再灌注后 miRNA-144

在不同时间点的表达变化

与假手术组比, * $P < 0.01$

4. 肾缺血再灌注后肾组织中 HSP90α 蛋白的表达变化: HSP90α 蛋白在假手术组及再灌注 4、8、12、24、48h 组的相对表达量分别为 0.16 ± 0.02 、 0.34 ± 0.03 、 0.45 ± 0.03 、 0.60 ± 0.03 、 0.81 ± 0.05 、 0.46 ± 0.05 , 与假手术组相比, IR 组 HSP90α 蛋白水平在缺血再灌注后 4h 开始升高, 随着再灌注时间的延长表达逐渐增加, 24h 达高峰, 48h 有所降低但仍高于假手术组, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.01 , 图 4)。

讨 论

HSP90α, 是一组高度保守的细胞内分子伴侣蛋白质, 能在环境、生理、化学等各种应激反应下诱导表达, 并通过激活各种细胞通路和酶参与重要的细胞功能, 如维持细胞结构, 参与细胞分化和细胞保护等。

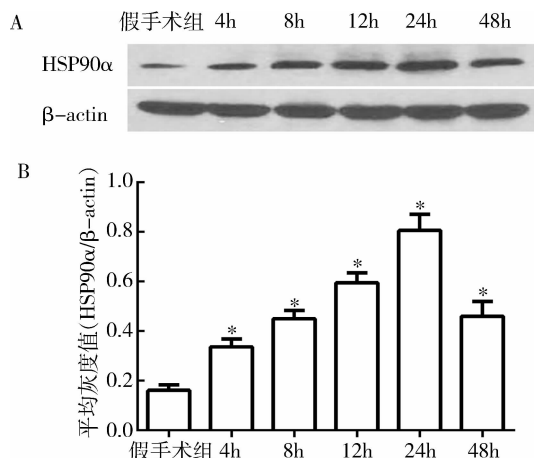


图 4 肾缺血再灌注后 HSP90α 蛋白在各组表达的 Western blot 法检测结果 (A) 和平均灰度值 (B)

与假手术组比较, * $P < 0.01$

研究表明, 预先诱导 HSP90α 表达增高能保护心肌细胞对抗缺血和化学缺氧损伤, 其机制可能与 HSP90α 的抗氧化和保护线粒体的功能有关^[5]。另外, 最近几年 miRNA 在组织缺血再灌注损伤方面的研究成为热点, 其中在心肌、肝脏缺血再灌注损伤中的研究较多, 而 miRNA-144 在肾缺血再灌注损伤中的研究尚未见报道^[6,7]。

本实验采用双侧肾蒂夹闭法建立小鼠肾缺血再灌注损伤模型, 研究肾脏中内源性 HSP90α 和 miRNA-144 的表达变化。实验发现再灌注 4h HSP90α 蛋白和 mRNA 表达已开始逐渐增强, mRNA 在 12h 达高峰, 蛋白水平在 24h 达高峰。结合肾组织的病理变化可知 HSP90α 的表达是伴随肾组织损伤程度的加重而逐渐增加的, 同时增加的 HSP90α 又不断改善细胞损伤, 使肾组织恢复正常。许多体内研究表明 HSP90α 表达增高, 能对抗一系列应激反应^[8,9]。Biermann 等^[8]发现 H₂S 能介导 HSP90α 表达增高而在大鼠视网膜缺血再灌注模型中起到保护神经和抗凋亡的作用。Jha 等^[9]在小鼠肝缺血再灌注模型中也做了类似的研究, HSP90 表达增高对肝缺血再灌注损伤起到了保护作用。另外, Barrera-Chimal 等^[10]在大鼠肾脏中转染 HSP90α, 发现 HSP90α 过表达能通过刺激内皮一氧化氮途径, 而对大鼠肾缺血再灌注损伤发挥保护作用。从这些研究中, 可以看出 HSP90 在缺血再灌注模型中扮演着重要的角色, 能够减少组织损伤, 但潜在的分子机制还有待探讨。

miRNA 发挥作用的机制是抑制靶 mRNA 分子或蛋白分子的表达。在本实验中, 缺血再灌注组

HSP90 α 的表达均高于假手术组,因此推测 HSP90 α 对应的潜在 miRNA 表达量在缺血再灌注组应该降低,笔者的 miRNA - 144 实时定量 PCR 结果正好与这一推测吻合。所以 HSP90 α 可能是 miRNA - 144 调控的靶蛋白之一。这也与最近一项研究结果一致,miRNA - 144 在心脏缺血再灌注后表达降低^[11]。Pan 等^[6]研究观察到,miRNA - 1 转基因鼠心脏缺血再灌注模型中,miRNA - 1 表达增高抑制了 PKC ϵ 和 HSP60 等保护蛋白的表达,使心肌梗死面积增大,加重了心肌损伤。同样的研究还有 miRNA - 320 能通过抑制 HSP20 的表达而加重心脏缺血再灌注损伤^[7]。由此可以推断,miRNA - 144 表达下调是肾组织应对缺血再灌注损伤使 HSP90 α 表达上调的内源性保护机制,故敲除 miRNA - 144 可能成为治疗肾缺血再灌注损伤的新策略。

综上所述,HSP90 α 表达上调和 miRNA - 144 表达下调在缺血再灌注中都扮演着重要的角色,对于 miRNA - 144 是否真正调控 HSP90 α ,笔者将做进一步的研究验证,从而为临床上治疗肾缺血再灌注损伤提供新的思路和理论基础。

参考文献

- 1 Chen YT, Tsai TH, Yang CC, *et al.* Exendin - 4 and sitagliptin protect kidney from ischemia - reperfusion injury through suppressing oxidative stress and inflammatory reaction [J]. *J Transl Med*, 2013, 11 (11):270
- 2 Fujino T, Muhib S, Sato N, *et al.* Silencing of p53 RNA through transarterial delivery ameliorates renal tubular injury and downregulates GSK - 3 β expression after ischemia - reperfusion injury [J].

- Am J Physiol Renal Physiol*, 2013, 305 (11): F1617 - F1627
 - 3 McClellan AJ, Xia Y, Deutschbauer AM, *et al.* Diverse cellular functions of the Hsp90 molecular chaperone uncovered using systems approaches [J]. *Cell*, 2007, 131 (1): 121 - 135
 - 4 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. *Cell*, 2004, 116 (2): 281 - 297
 - 5 Wu K, Xu W, You Q, *et al.* Increased expression of heat shock protein 90 under chemical hypoxic conditions protects cardiomyocytes against injury induced by serum and glucose deprivation [J]. *Int J Mol Med*, 2012, 30 (5): 1138 - 1144
 - 6 Pan Z, Sun X, Ren J, *et al.* miR - 1 exacerbates cardiac ischemia - reperfusion injury in mouse models [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (11): e50515
 - 7 Ren XP, Wu J, Wang X, *et al.* MicroRNA - 320 is involved in the regulation of cardiac ischemia/reperfusion injury by targeting heat - shock protein 20 [J]. *Circulation*, 2009, 119 (17): 2357 - 2366
 - 8 Biermann J, Lagreze WA, Schallner N, *et al.* Inhalative preconditioning with hydrogen sulfide attenuated apoptosis after retinal ischemia/reperfusion injury [J]. *Mol Vis*, 2011, 17 (1): 1275 - 1286
 - 9 Jha S, Calvert JW, Duranski MR, *et al.* Hydrogen sulfide attenuates hepatic ischemia - reperfusion injury: role of antioxidant and anti-apoptotic signaling [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 295 (2): H801 - H806
 - 10 Barrera - Chimal J, Perez - Villalva R, Ortega J A, *et al.* Intra - renal transfection of heat shock protein 90 alpha or beta (Hsp90alpha or Hsp90beta) protects against ischemia/reperfusion injury [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2014, 29 (2): 301 - 312
 - 11 Li J, Rohailla S, Gelber N, *et al.* MicroRNA - 144 is a circulating effector of remote ischemic preconditioning [J]. *Basic Res Cardiol*, 2014, 109 (5): 423
- (收稿日期: 2014 - 10 - 17)
(修回日期: 2014 - 10 - 30)

埃博拉病毒包膜糖蛋白的密码子偏爱性分析

赵玉娇 黄新伟 李 多 邱丽娟 孙强明

摘 要 目的 对从 2014 年西非埃博拉暴发地区感染者分离的 4 个埃博拉病毒株基因组包膜糖蛋白编码基因进行密码子偏爱性分析,为埃博拉病毒包膜蛋白基因表达中宿主系统选择和密码子优化提供参考。**方法** 通过 GeneBank 搜索近期公布的分离自西非地区的 4 个埃博拉病毒株全基因组序列,获得编码包膜糖蛋白 GP1 和 GP2 的基因序列及蛋白编码序列。采用 EMBOSS 在线预测埃博拉病毒包膜糖蛋白的密码子偏爱性,并通过与 Codon Usage Database 中大肠杆菌、酵母及人的密码子使用频率进行比较,筛选最适埃博拉病毒 GP 蛋白体外表达的宿主物种,并提供相应密码子优化方案。**结果** 埃博拉病毒基因组、GP1 和 GP2 的 Nc 值均在 57 左右,CAI 值均在 0.7 左右,表明其密码子偏爱性较均一,且基因的表达水平相对较高;编码 GP1 蛋白 F、

基金项目:国家自然科学基金资助项目(面上项目)(81171946);云南省科技厅社会发展科技计划项目(2011CA016);云南省自然科学基金资助项目(2009ZC187M,2012FB188);中国医学科学院医学生物学研究所重大专项基金资助项目(2014MB05ZD)

作者单位:650118 昆明,中国医学科学院/北京协和医学院医学生物学研究所、云南省重大传染病疫苗研发重点实验室

通讯作者:孙强明,电子信箱:msun08@yahoo.com