

## 结核杆菌抗原多表位融合蛋白的重组表达与鉴定

吴传勇, 姜加陶, 蒋廷旺, 钱 琤, 周 晔, 陈 燕, 谷明莉, 邓安梅\*, 仲人前\*

(第二军医大学长征医院实验诊断科, 解放军临床免疫中心, 上海 200003)

**[摘要]** **目的:** 构建含有 6 个编码结核杆菌抗原 HLA-A \* 0201 限制性 CD8+CTL 表位基因序列的重组质粒, 并在大肠杆菌中诱导表达。 **方法:** 选取结核杆菌抗原 Rv0309、Rv0173、Ag85A、Ag85C 的 6 个 HLA-A \* 0201 限制性 CD8+CTL 表位, 引入 Th 表位 PADRE 及木马肽序列, 并以 RVKR 序列作为接头, 合成全基因序列, 经 PCR 扩增后插入融合表达载体 pGEX-4T-1, 将重组质粒转入大肠杆菌 BL21 并以 IPTG 诱导表达, 经 SDS-PAGE 和 Western 印迹鉴定重组表达蛋白。 **结果:** 成功构建了结核杆菌多表位蛋白的表达质粒, 并经 IPTG 诱导表达了大小约为 40 000 的融合蛋白。 **结论:** 多表位融合蛋白的重组表达为进一步开发新型结核疫苗打下了基础。

**[关键词]** 分枝杆菌, 结核; 表位; 疫苗, 合成

**[中图分类号]** R 52 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2006)12-1281-05

### Recombinant expression of multiepitope fusion polypeptide derived from *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb.) antigens

WU Chuan-yong, LOU Jia-tao, JIANG Ting-wang, QIAN Cheng, ZHOU Ye, CHEN Yan, GU Ming-li, DENG An-mei\*, ZHONG Ren-qian\* (Department of Laboratory Diagnosis, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Clinical Immunology Center of PLA, Shanghai 200003, China)

**[ABSTRACT]** **Objective:** To construct a recombinant multiepitope fusion polypeptide containing 6 HLA-A \* 0201 restricted CTL epitopes derived from *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb.) antigens and express it in *E. coli*. **Methods:** The full-length sequence encoding 6 HLA-A \* 0201 restricted CTL epitopes were derived from Mtb. antigens Rv0309, Rv0173, and Ag85A, Ag85C; pan DR Th epitope (PADRE), Trojan peptide, and furin-sensitive linker RVKR were synthesized, amplified by polymerase chain reaction (PCR), inserted into the expression vector pGEX-4T-1, and transformed into *E. coli* BL21 (DE3). After induced by isopropylthio- $\beta$ -D-galactoside (IPTG), the recombinant protein expression was examined by SDS-PAGE and Western blot. **Results:** The recombinant multiepitope fusion polypeptide plasmid was successfully constructed and expressed (about 40 000) in *E. coli* BL21 (DE3). **Conclusion:** The recombinant multiepitope fusion polypeptide may provide a basis for developing novel TB vaccine.

**[KEY WORDS]** *Mycobacterium tuberculosis*; epitope; vaccines, synthetic

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(12):1281-1285]

结核病 (tuberculosis, TB) 是全球主要传染性疾病之一, 全世界有 1/3 约 20 亿人口感染结核杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, Mtb.), 每年新发病约 800 万, 死亡约 200 万<sup>[1]</sup>。近年来, 结核杆菌多重耐药菌株及人体免疫缺陷病毒 (HIV) 双重感染的出现, 使结核病的发病率和死亡率呈上升趋势。卡介苗 (BCG) 是目前惟一可用的抗结核疫苗, 研究表明, BCG 可预防儿童结核性脑病, 但功效只能维持 10~15 年; 此外, 在不同的研究报道中, 其保护效率为 0~80% 不等<sup>[2]</sup>。因此, 研发新型结核疫苗以替代 BCG 势在必行。

结核杆菌抗原的 CTL 表位对于激活抗结核杆菌的保护性免疫反应至关重要, 然而, 由单纯的 CTL 表位构成的多肽疫苗或 DNA 疫苗诱导产生的特异性 CTL 免疫应答水平较低, 效果不甚理想。我们选取来源于 4 个结核杆菌抗原的 6 个不同 HLA-

A \* 0201 限制性 CD8<sup>+</sup> CTL 表位 (Ag85A 的 48~55aa 和 242~250aa、Rv0309 的 3~12aa、Rv0173 的 260~269aa 和 302~311aa、Ag85c 的 144~153aa), 加入广谱高效的 Th 表位 PADRE 和木马肽序列, 以 furin 蛋白酶识别基序 RVKR 为表位间接头, 构建重组表达质粒并在大肠杆菌诱导表达, 为开发新型

**[基金项目]** 国家自然科学基金 (30471616); 上海市重点基础科研项目 (05JC14052); 上海市重点科研支撑条件项目 (051409012); 上海市青年科技启明星计划 (QMX01423)。Supported by National Natural Science Foundation of China (30471616), Key Project in Basic Research of Shanghai Municipal Government (05JC14052), Shanghai Key Scientific Research Supporting Program (051409012), and Shanghai Rising Star Program (QMX01423).

**[作者简介]** 吴传勇, 硕士生。

\* Corresponding authors. E-mail: amdeng70@yahoo.com; rqzhong@hotmail.com

结核疫苗打下基础。

### 1 材料和方法

1.1 材料 表达载体 pGEX-4T-1、大肠杆菌 DH5 $\alpha$  及大肠杆菌 BL21 均为本实验室保存;质粒小量抽提试剂盒、小量胶回收试剂盒购自优品生物工程有限公司;PCR 试剂盒购自 Promega 公司;限制性内切酶 *Bam*H I、*Nde* I 及 *Xho* I 购自 TaKaRa 公司;T<sub>4</sub>DNA 连接酶购自 Roche 公司;琼脂糖购自 Gibco 公司;胰化蛋白胨、酵母提取物购自 Oxoid 公司;异丙基硫代- $\beta$ -D-半乳糖苷(IPTG)购自上海博光生物科技有限公司;硝酸纤维素滤膜购自 Amersham 公司;抗 GST 特异性单克隆抗体(mAb)购自 Chemicon 公司,辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗鼠 IgG 购

自 eBioscience 公司;预染蛋白 marker 购自 Bio-Lab 公司。

#### 1.2 方法

1.2.1 全基因合成多表位蛋白的基因序列 选取来源于 4 个结核杆菌抗原的 6 个不同 HLA-A \* 0201 限制性 CD8<sup>+</sup> CTL 表位(Ag85A 的 48~55aa 和 242~250aa、Rv0309 的 3~12aa、Rv0173 的 260~269aa 和 302~311aa、Ag85c 的 144~153aa)、广谱高效的 Th 表位 PADRE 和木马肽序列 Trojan peptide,以 furin 蛋白酶识别基序 RVKR 间隔(Linker)连接为多表位蛋白,委托上海生工生物工程技术服务有限公司全基因合成其基因序列。全基因合成序列及其各构成部分的氨基酸序列及基因序列如图 1。

Peptide	Amino acid sequence	DNA sequence
Ag85A(48-55aa) <sup>[3]</sup>	GLP VEY LQ	<b>ggc ttg ccg gtg gag tac ctg caa</b>
Ag85A(242-250aa) <sup>[3]</sup>	KLI ANN TRV	<b>aag ctg atc gcc aac aac acc cgc gtc</b>
Rv0309(20-29aa) <sup>[4]</sup>	VLA PVS LAV V	<b>gtc ctg gct cct gtc agt ctg gct gcg gta</b>
Rv0173(18-27aa) <sup>[5]</sup>	GLV LLV LAL L	<b>ggt ctg gtc ctg ctg gtc ctg gct ctg ctt</b>
Rv0173(302-311aa) <sup>[5]</sup>	LLR GGG LVN L	<b>ctc ttg cgt gcc gcc gcc ctg gtc aat ctg</b>
Ag85c(144-153 aa) <sup>[6]</sup>	FLT REM PAW L	<b>ttc ctt acc aga gag atg ccc gcc tgg cta</b>
PADRE <sup>[7]</sup>	AKF VAA WTL KAA A	<b>gcc aag ttc gtg gct gcc tgg acc ctg aag gct gcc gct</b>
Trojan peptide <sup>[8]</sup>	RKK RRQ RRR	<b>cgc aag aaa cgt cgc caa cgc cgc cgt</b>
Linker <sup>[9]</sup>	RVK R	<b>cgt gtt aag cgt</b>

Total amino acid sequence:

GLP VEY LQR VKR KLI ANN TRV RVK RVL APVSLA VVR VKR GLV LLV LAL LRV KRL LRG GGLVNL RVK RFL TRE MPA WLR VKR AKF VAA WTL KAA ARV KRR KKR RQR RR

Total DNA sequence:

**ggc ttg ccg gtg gag tac ctg caa cgt gtt aag cgt aag ctg atc gcc aac aac acc cgc gtc cgt gtt aag cgt gtc ctg gct cct gtc agtc tgc ctg cgg tac gtg tta agc gtg gtc tgc tcc tcc tgc tcc tgc ctg tcc ttc gtg tta agc gtc tct tgc gtg cgc cgc ccc tgc tca atc tcc gtc tta agc gtt tcc tta cca gag aga tgc cgc cct ggc tac gtg tta agc gtc cca agt tgc tgg ctg cct gga ccc tga agg ctg cgc gtg tta agc gtc gca aga aac gtc gcc aac gcc gcc gt**

图 1 全基因合成序列及其各构成部分的氨基酸序列及基因序列

Fig 1 Amino acid sequences and DNA sequences of synthesized gene sequences and its components

1.2.2 PCR 引物设计 根据合成多表位蛋白的基因序列,设计特异性扩增该基因序列的引物,上游引物为 5'-GCT GGA TCC GGC TTG CCG GTG AGA TA-3',下游引物为 5'-GCA CTC GAG ACG GCG GCG TTG GCG ACG TTT-3',在上、下游引物 5'端分别引入 *Bam*H I、*Xho* I 酶切位点和保护

碱基(带下划线的为酶切位点),以便于酶切和克隆。交由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。

1.2.3 PCR 扩增多表位蛋白的基因序列 以全基因合成的多表位基因序列为模板,用合成的上、下游引物扩增多表位蛋白的基因序列,反应总体积为 50  $\mu$ l,含 ddH<sub>2</sub>O 28.0  $\mu$ l,10 $\times$ PCR 缓冲液 5.0  $\mu$ l,

dNTPs 4.0  $\mu\text{l}$ , 模板 1.0  $\mu\text{l}$ , 特异性引物对各 2.0  $\mu\text{l}$  (40  $\mu\text{mol/L}$ ), *Taq* 酶 1.0  $\mu\text{l}$ 。反应条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min, 95 $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s, 52 $^{\circ}\text{C}$  复性 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 30 s, 循环 35 次, 72 $^{\circ}\text{C}$  再延伸 5 min。取 5  $\mu\text{l}$  扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳, 紫外灯下观察结果。

1.2.4 多表位蛋白原核表达载体的构建与鉴定 回收多表位蛋白基因序列的 PCR 产物, 以 *Bam*H I、*Xho* I 双酶切, 经琼脂糖凝胶电泳, 回收目的基因条带, 与同样经 *Bam*H I、*Xho* I 双酶切和回收的表达载体 pGEX-4T-1, 以  $T_4$ DNA 连接酶连接。转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态细胞, 涂布于含 100 mg/L 氨苄青霉素的 LB 平板, 37 $^{\circ}\text{C}$  培养过夜。挑取生长良好的单菌落, 接种于 5 ml 含 100 mg/L 氨苄青霉素的 LB 培养基, 37 $^{\circ}\text{C}$  振荡培养过夜, 抽取质粒 DNA, 以 *Bam*H I、*Xho* I 双酶切鉴定, 阳性克隆送上海生工生物工程技术有限公司测序, 正确的重组质粒命名为 pGEX-4T-1/B。

1.2.5 重组质粒的表达 将经鉴定正确的重组质粒 pGEX-4T-1/B, 转化大肠杆菌 BL21(DE3) 感受态细胞, 涂布于含 100 mg/L 氨苄青霉素的 LB 平板, 37 $^{\circ}\text{C}$  培养过夜。挑取生长良好的单菌落, 接种于 5 ml 含 100 mg/L 氨苄青霉素的 LB 培养基, 37 $^{\circ}\text{C}$  振荡培养过夜。取 50  $\mu\text{l}$  接种于 5 ml 含 100 mg/L 氨苄青霉素的 LB 培养基, 37 $^{\circ}\text{C}$  振荡培养 2~3 h, 至  $D_{600} = 0.6 \sim 0.8$ , 1 mmol/L IPTG 诱导 4~5 h, 收获菌体, 进行 15% SDS-PAGE 蛋白电泳。电泳结束后, 经考马斯亮蓝 R-250 染色和脱色液脱色后, 观察分析重组蛋白表达结果。

1.2.6 表达产物的 Western 印迹鉴定 将上述收获的经诱导表达 pGEX-4T-1/B 菌体, 进行 15% SDS-PAGE 蛋白电泳后, 转移至硝酸纤维素膜上, 用 5% 脱脂奶粉封闭过夜, 以抗 GST 的特异性单克隆抗体 (mAb) 为一抗, 室温作用 1 h, PBS (pH 7.2) 洗涤 2 次, 以 HRP 标记的羊抗鼠 IgG 作为二抗, 室温作用 1 h, PBS (pH 7.2) 洗涤 2 次, 以 DAB 显色, 观察表达产物。

## 2 结果

2.1 多表位蛋白原核表达载体的构建 由上海生工生物工程技术有限公司, 对多表位蛋白的基因序列进行全基因合成, 并对全基因合成进行测序, 其结果完全符合预期要求。以全基因合成的多表位基因序列为模板, 用合成的引物, 扩增多表位蛋白的基因序列, 取 5  $\mu\text{l}$  PCR 产物, 进行 2% 琼脂糖凝胶电泳, 紫外灯下观察结果, 可见一条清晰特异扩增条带, 大

小约为 330 bp, 与理论预计值基本一致。多表位蛋白基因序列的 PCR 产物, 以 *Bam*H I、*Xho* I 双酶切, 回收目的基因片段, 与同样经 *Bam*H I、*Xho* I 双酶切的 pGEX-4T-1 质粒连接, 转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态细胞, 在选择平板上随机挑取 3 个单克隆, 抽提质粒以 *Bam*H I、*Xho* I 双酶切, 琼脂糖凝胶电泳后, 紫外灯下观察结果, 3 个克隆均切出约 330 bp 的片段, 符合目的基因的预期长度, 将 2 号阳性克隆命名为 pGEX-4T-1/B, 并经上海生工生物工程技术有限公司测序, 结果完全符合预期要求 (图 2)。

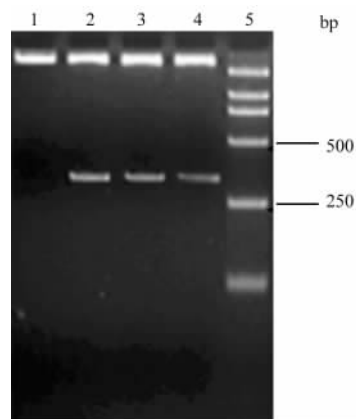


图 2 重组质粒 pGEX-4T-1/B 的 *Bam*H I 和 *Xho* I 双酶切鉴定

Fig 2 Identification of recombinant plasmid pGEX-4T-1/B by *Bam*H I and *Xho* I restriction enzyme cleavage

1: pGEX-4T-1 digested with *Bam*H I and *Xho* I ; 2-4: pGEX-4T-1/B digested with *Bam*H I and *Xho* I ; 5: DNA marker

2.2 重组质粒的表达及其产物的鉴定 重组质粒 pGEX-4T-1/B 转化大肠杆菌 BL21(DE3) 感受态细胞, 37 $^{\circ}\text{C}$  振荡培养 2~3 h, 至  $D_{600} = 0.6 \sim 0.8$ , 1 mmol/L IPTG 诱导 4~5 h, 收获菌体, 经 IPTG 诱导表达, 进行 15% SDS-PAGE 蛋白电泳, 发现在相对分子质量约为 40 000 处, 与未经 IPTG 诱导菌株相比, 有一条明显的蛋白条带, 同预计的大小一致 (含 GST) (图 3)。经凝胶薄层扫描, 测得重组菌表达带的蛋白量约占菌体总蛋白量的 30%。以抗 GST 的特异性 mAb 为一抗, 对表达产物进行 Western 印迹分析, 发现在相对分子质量约为 40 000 处, 有一条明显的表达带, 表明表达产物含有能与抗 GST 的特异性 mAb 相结合的表位 (图 4)。

## 3 讨论

目前, 结核病仍然严重威胁着人类健康, 而现在

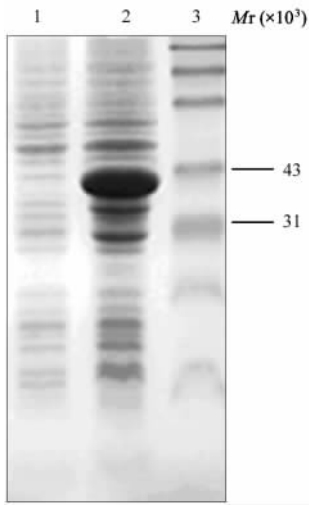


图 3 多表位蛋白融合表达产物的 SDS-PAGE 分析

Fig 3 SDS-PAGE analysis of multi-epitope polypeptide fusion expression product

1: pGEX-4T-1/B not induced; 2: pGEX-4T-1/B induced by IPTG; 3: Protein marker

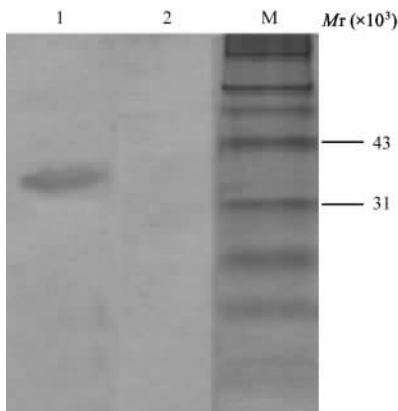


图 4 多表位蛋白融合表达产物的 Western 印迹分析

Fig 4 Western blot analysis of multi-epitope polypeptide fusion expression product

1: Induced pGEX-4T-1/B; 2: BL21; 3: Protein marker

常用 BCG 的预防效果不理想,国内外许多学者致力于研究一种能够替代 BCG 的有效的抗结核疫苗,如结合杆菌亚单位疫苗、减毒活疫苗等,以用于结核病的防治。方兴未艾的表位疫苗,与以往的抗原蛋白疫苗相比,具有很多明显的优势,如:(1)表位的使用,克服了以重组抗原蛋白进行免疫所涉及的潜在的安全问题;(2)来自多种抗原的多种表位可以被装入相对较小的载体,解决了多个抗原在单一载体中使用时存在的许多问题;(3)表位疫苗能够促进免疫系统同时针对多个关键表位,从而诱导更加强烈的免疫反应<sup>[10]</sup>。近年来,众多关于结核杆菌感染鼠模型以及临床研究结果表明,当受到结核杆菌刺激时,

CD8<sup>+</sup> T 细胞能够行使分泌细胞因子和细胞杀伤功能,发挥重要的抗结核保护性免疫作用<sup>[11]</sup>。HLA I 类分子在不同人群中的表达存在种族差异,HLA-A \* 0201 在多数人群中普遍存在,其频率大于 40%。因此,进行结核杆菌抗原 HLA-A \* 0201 限制性 CD8<sup>+</sup> T 细胞表位疫苗的研究具有重大的现实意义。

然而,实践证明利用单纯的 CD8<sup>+</sup> T 细胞表位构成的多肽疫苗或 DNA 疫苗,特异性 CTL 免疫应答水平较低,效果不甚理想。为了获得高效而特异的保护性 CTL 免疫应答,需要对单纯的 CTL 表位疫苗进行一定的改造,主要包括:(1)以“向导序列”加速目的抗原的降解及提呈。CTL 表位肽连接来源于 HIV-1 Tat 的木马肽(Trojan peptide)序列后,可直接进入 APC 细胞的胞质,将肽表位直接运送到内质网和反式高尔基体网络(TGN),其固有的肽酶可高效产生 MHC-I 结合肽并在 TAP 非依赖性模式下高效形成 MHC-I/肽复合物<sup>[8,12]</sup>;(2)采用 TGN 固有的肽链内切酶 furin 蛋白酶识别基序 RXRR 或 RXKR 作为各个表位间的接头,对连接在木马肽的多肽序列的释放起着重要的作用,因此以 furin 蛋白酶敏感序列为接头连接的多个 T 细胞表位,可在木马肽引导下,进入 APC 细胞内,形成各自独立的 MHC-I 结合的表位肽并能被 CTL 高效识别<sup>[9,13]</sup>。(3)通过引入广谱高效的 Th 表位 PADRE (Poly Alamine DR Epitope)来改善 Th 细胞的功能状态,以达到增强特异性 CTL 免疫应答。Th 细胞在免疫应答过程中发挥着关键性的作用。首先 Th 细胞可通过直接接触或分泌细胞因子(如 IL-2、IL-4 等)来诱导和促进 CTLp 及前体 B 细胞克隆扩增、分化发育为效应细胞;其次在抗结核杆菌感染免疫中 Th 细胞也可以通过细胞间直接接触而杀伤靶细胞或分泌细胞因子(如 IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  等)来发挥保护性效应<sup>[7,14]</sup>。

pGEX-4T-1 载体是常用的融合表达载体,目的基因与谷胱甘肽转移酶(GST)基因融合表达,有利于蛋白的稳定和纯化,它还具有专一性蛋白酶识别位点,可以从表达的融合蛋白中切下所需要的蛋白和多肽。表达菌株 BL21(DE3)可以高效表达克隆于含有 tac 启动子的表达载体(如 pGEX-4T-1)的外源基因,它还以蛋白酶缺陷而著称,因此能够产生更多的全长融合蛋白。

本研究利用基因工程技术,将多个结核杆菌抗原的 HLA-A \* 0201 限制性 CTL 表位,分别为 Ag85A 两个、Rv0309 一个、Rv0173 两个和 Ag85c 一个,与 Th 表位以及木马肽的基因序列,以 Linker

基因序列间隔并连接,克隆到表达载体 pGEX-4T-1,转入大肠杆菌 BL21 菌株,成功表达出结核杆菌抗原多表位蛋白与 GST 融合产物,为今后开发抗结核多肽保护性疫苗奠定了基础。

### [参考文献]

- [1] Chan ED, Iseman MD. Current medical treatment for tuberculosis[J]. *BMJ*, 2002, 325: 1282-1286.
- [2] Coler RN, Campos-Neto A, Owendale P, et al. Vaccination with the T cell antigen Mtb 8.4 protects against challenge with *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *J Immunol*, 2001, 166: 6227-6235.
- [3] Smith SM, Klein MR, Malin AS, et al. Human CD(8+) T cells specific for *Mycobacterium tuberculosis* secreted antigens in tuberculosis patients and BCG-vaccinated controls in The Gambia [J]. *Infect Immun*, 2000, 68: 7144-7148.
- [4] 娄加陶, 吴传勇, 蒋廷旺, 等. 结核杆菌抗原 Rv0309 的 HLA-A \* 0201 限制性 CD8<sup>+</sup> CTL 表位的预测及鉴定[J]. *中国免疫学杂志* (已接受).
- [5] 陈 军, 娄加陶, 吴传勇, 等. 结核杆菌抗原 Rv0173 的 HLA-A \* 0201 限制性 CD8<sup>+</sup> CTL 表位的预测及鉴定[J]. *中华微生物和免疫学杂志* (已接受).
- [6] Geluk A, van Meijgaarden KE, Franken KL, et al. Identification of major epitopes of *Mycobacterium tuberculosis* AG85B that are recognized by HLA-A \* 0201-restricted CD8<sup>+</sup> T cells in HLA-transgenic mice and humans [J]. *J Immunol*, 2000, 165: 6463-6471
- [7] Alexander J, Fikes J, Hoffman S, et al. The optimization of helper T lymphocyte (HTL) function in vaccine development [J]. *Immunol Res*, 1998, 18: 79-92.
- [8] Alexander J, Oseroff C, Dahlberg C, et al. A decapeptide polypeptide primes for multiple CD8<sup>+</sup> IFN- $\gamma$  and Th lymphocyte responses: evaluation of multiepitope polypeptides as a mode for vaccine delivery [J]. *J Immunol*, 2002, 168: 6189-6198.
- [9] Lu J, Higashimoto Y, Appella E, et al. Multiepitope Trojan antigen peptide vaccines for the induction of antitumor CTL and Th immune responses [J]. *J Immunol*, 2004, 172: 4575-4582.
- [10] De Groot AS, McMurry J, Marcon L, et al. Developing an epitope-driven tuberculosis (TB) vaccine [J]. *Vaccine*, 2005, 23 (17-18): 2121-2131.
- [11] Grotzke JE, Lewinsohn DM. Role of CD8<sup>+</sup> T lymphocytes in control of *Mycobacterium tuberculosis* infection [J]. *Microbes Infect*, 2005, 7: 776-788.
- [12] Velders MP, Weijzen S, Eiben GL, et al. Defined flanking spacers and enhanced proteolysis is essential for eradication of established tumors by an epitope string DNA vaccine [J]. *J Immunol*, 2001, 166: 5366-5373.
- [13] Lu J, Wettstein PJ, Higashimoto Y, et al. TAP independent presentation of CTL epitopes by Trojan antigens [J]. *J Immunol*, 2001, 166: 7063-7071.
- [14] Vichier-Guerre S, Lo-Man R, BenMohamed L, et al. Induction of carbohydrate-specific antibodies in HLA-DR transgenic mice by a synthetic glycopeptide: a potential anti cancer vaccine for human use [J]. *J Pept Res*, 2003, 62: 117-124.
- [收稿日期] 2006-10-23 [修回日期] 2006-11-23
- [本文编辑] 邓晓群

## 欢迎订阅《第二军医大学学报》

《第二军医大学学报》是由第二军医大学主办的国内外公开发行的综合性医药卫生类学术期刊。本刊面向全国和海外作者征稿,主要报道基础、临床、预防、军事医学、药理学和中国医学等领域的最新科研成果。由中国科学院院士、肝胆外科专家、国家最高科技奖获得者吴孟超教授任主编。辟有:院士论坛、专家论坛、专题报道、论著、研究快报、临床病理(例)讨论、个案报告等栏目。读者对象主要为从事医药卫生工作的中高级科研、医疗、教学、预防机构和高等医药院校的师生。本刊自 1980 年创刊以来,一直连续被确认为“中国基础医学类核心期刊”、“中国综合性医药卫生类核心期刊”;被权威机构确定为“中国科学引文数据库统计源期刊”、“中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊”;被包括万方数据——中国数字化期刊群、中国学术期刊综合评价数据库等在内的国内所有重要检索系统,以及 20 多种重要的文摘性刊物收录,被荷兰《医学文摘》(EMBASE)、美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(PЖ)、波兰《哥白尼索引》收录。本刊 2002 年荣获“第二届国家期刊奖百种重点期刊奖”,2004 年荣获“第三届国家期刊奖提名奖”和全国高校优秀科技期刊评比一等奖,2006 年荣获首届中国高校精品科技期刊奖。

本刊为月刊, A4 开本, 80 g 铜版纸彩色双胶印刷, 2007 年起每期定价 15 元, 全年共 180 元。可在当地邮局订阅(邮发代号 4-373), 漏订者可来函本刊编辑部办理邮购。

地址:上海市翔殷路 800 号 《第二军医大学学报》编辑部, 邮编: 200433

联系人: 商素芳. 电话: 021-25074352, 021-25074340 转 824 分机

E-mail: bxue@smmu.edu.cn, bxue304@yahoo.com.cn

http://journals.smmu.edu.cn