

功能未知基因C17orf77重组蛋白及多克隆抗体的制备

孟雪¹, 顾红岩¹, 李辉², 孙月², 詹永婧², 张仁雯¹, 郝晓花¹, 魏红山¹, 李兴旺¹ (1.北京大学地坛医院教学医院, 北京 100015; 2.首都医科大学附属北京地坛医院 感染二科, 北京 100015)

摘要: **目的** 体外克隆表达C17orf77重组蛋白, 制备其多克隆抗体, 初步探索该蛋白的生物学作用, 观察其细胞系分布特征。**方法** 以HepG2细胞cDNA为模板, PCR扩增C17orf77目的基因片段, 构建pET-32a (+)-C17orf77原核表达载体。转化大肠埃希菌, IPTG诱导C17orf77重组蛋白表达并进行Western blot鉴定。以重组蛋白免疫大耳白兔, 获得兔抗C17orf77蛋白多克隆抗体, 并分析其特异性及检测效价。MTT法观察不同浓度重组蛋白对HepG2细胞增殖的影响。利用Western blot观察C17orf77蛋白在HepG2、L02、LX2和Jurkat细胞系的表达情况。**结果** PCR扩增获得C17orf77基因片段, 成功诱导表达了C17orf77重组蛋白。制备了多克隆抗-C17orf77, ELISA检测抗体效价 $> 1:1\ 280\ 000$ 。不同浓度C17orf77重组蛋白对HepG2细胞无明显增殖促进或抑制活性 ($P > 0.05$)。C17orf77蛋白在HepG2、L02、LX2和Jurkat细胞系均有分布。**结论** 利用体外克隆表达的C17orf77重组蛋白可制备效价和特异性均较高的多克隆抗体。HBV感染相关基因C17orf77在体外肝脏的间质和实质细胞, 以及CD4⁺ T细胞系 (Jurkat细胞) 均有不同程度的表达。提示该基因可能与HBV感染的致病过程相关。

关键词: 肝炎病毒, 乙型; 基因; 抗体; 重组蛋白质类

Recombinant protein induction and polyclonal antibody preparation of novel gene C17orf77

MENG Xue¹, GU Hong-yan¹, LI Hui², SUN Yue², ZHAN Yong-jing², ZHANG Ren-wen¹, HAO Xiao-hua¹, WEI Hong-shan¹, LI Xing-wang¹ (1.Beijing Ditan Hospital, Peking University Teaching Hospital, Beijing 100015, China; 2.Infectious Diseases Department, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China)

Abstract: Objective To clone, express and purify C17orf77 recombinant protein for preparation of specific polyclonal antibody and to determine the expression of C17orf77 protein in different cell lines, and further elucidate its biological function. **Methods** PCR was applied to amplify the gene C17orf77 in vitro. pET-32a (+)-C17orf77, the recombinant protein prokaryotic expression vector, was transformed into *E. coli*. Then IPTG was taken

as the inductive agent to obtain C17orf77 recombinant protein, which was analyzed by the recombinant protein with sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and Western blot. Specific polyclonal antibody was derived from rabbits immunized by recombinant protein. ELISA and Western blot were applied to test its titer and specificity, respectively. MTT cell proliferation experiment was carried out to observe the effects of different concentration of recombinant protein on proliferation of HepG2 cells. Western blot was used to observe the expression of C17orf77 protein in HepG2, L02, LX2 and Jurkat cells, respectively. **Results** The C17orf77 recombinant protein was expressed in a large quantity. Data of ELISA indicated that the titer of polyclonal antibody was higher than 1 : 1 280 000. And the antibody also had a good specificity, which was confirmed by Western blot. C17orf77 recombinant protein had no impact on the proliferation of HepG2 cells ($P > 0.05$). C17orf77 protein could be observed in all HepG2, L02, LX2 and Jurkat cell lines. **Conclusions** Through C17orf77 recombinant protein, we can prepare the polyclonal antibody with great titer and good specificity. Human novel gene C17orf77 expresses in HepG2, L02, LX2 and Jurkat cells at different level, suggesting that it may participate in the pathogenic processes of HBV infection related diseases.

Key words: Hepatitis B virus; Genes; Antibodies; Recombinant proteins

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 在肝细胞中复制和释放, 与机体免疫系统发生复杂的相互作用, 导致机体特异性免疫反应减弱、非特异性免疫反应增强, 使HBV得以耐受宿主特异性免疫反应而形成持续慢性感染, 同时由于增强的非特异性免疫反应导致肝脏炎性损害。然而, 目前对于HBV的免疫耐受机制及其造成肝脏炎性损害的分子机制并不十分清楚。既往研究将HBV大蛋白 (hepatitis B virus large surface protein, LHB) 转染HepG2细胞, 发现LHB可以诱导多个基因的表达上调, 包括人类功能未知的C17orf77基因^[1]。LHB具有双重跨膜拓扑结构^[2], 具有直接肝细胞毒性和致癌性、反式激活增强病毒复制以及上调共价闭环环状HBV DNA (covalently closed circular HBV DNA, HBV cccDNA) 拷贝数的作用^[3-6]。同时LHB在肝细胞内质网积聚是导致内质网应激, 从而导致肝细胞损伤的关键因素^[5]。因此, C17orf77的表达可能与HBV在肝细胞内复制或HBV感染导致的病理过程有关。本研究旨在克隆表达人类HBV感染相关未知基因C17orf77, 并制备其多克隆抗体, 为其功能研究奠

定工作基础。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂 人肝癌细胞系HepG2、人正常肝细胞系L02、人白血病T细胞系Jurkat 及pET-32a (+) 载体为本室保存; Taq酶、T4 DNA连接酶、限制性核酸内切酶购自Promega公司; 鼠抗His单克隆抗体、辣根过氧化物酶 (Horse radish peroxidase, HRP) 标记的羊抗鼠IgG购自Santa Cruz公司; 辣根过氧化物酶底物A、B购自北京热景生物公司; 弗氏完全、不完全佐剂及蛋白分析试剂盒购自美国Sigma公司; 其余化学试剂均为国产分析纯和生物化学试剂。体重2.5 kg雄性大耳白兔购自北京大学医学部实验动物中心, 动物许可证号SCXK (京) 2001-0008。引物合成由上海生工生物技术有限公司完成。

1.2 C17orf77基因的扩增 根据C17orf77编码区信号肽以外的基因序列设计合成一对寡聚核苷酸引物 (上游引物: 5' - GGATCCTCTCTGTCTCCAAGCCAGCC-3' ; 下游引物: 5' - CTCGAGTCCCAGTGGGAAGTGTTTC-3'),

在基因序列分别5'-端和3'-端分别引入*Bam* H I、*Xho* I酶切位点。Trizol法提取PBMC、L02、HepG2细胞总RNA, PCR扩增C17orf77基因片段。反应条件: 95 ℃ 5分钟; 95 ℃ 30秒, 62 ℃ 30秒, 72 ℃ 1分钟, 35个循环; 72 ℃ 10分钟; 4℃放置。1%琼脂糖凝胶鉴定扩增结果, PCR产物纯化回收。

1.3 pET-32a (+)-C17orf77原核表达载体的构建 以T4 DNA连接酶连接纯化回收的C17orf77基因片段和pGEM-T vector, 将连接体系转化大肠埃希菌DH5 α , 提取pGEM-T-C17orf77质粒进行测序比对。pGEM-T-C17orf77质粒和pET-32a (+)载体同时以限制性内切酶*Bam* H I、*Xho* I进行双酶切, 以T4 DNA连接酶连接, 测序比对, 构建pET-32a (+)-C17orf77原核表达载体。

1.4 重组蛋白的诱导表达 正确构建的pET-32a (+)-C17orf77原核表达载体转化表达菌株大肠埃希菌Rosetta感受态细胞, -80 ℃保菌备用。

pET-32a (+)-C17orf77的Rosetta菌液100 μ l接种于5 ml LB培养基中, 次日1:50 (V/V)扩大培养, 37 ℃摇菌至菌体密度 A 值为0.6~0.8, 加入诱导剂IPTG至终浓度为1 mmol/L, 30 ℃继续培养4小时后离心9000 r/min, 15分钟。菌斑反复冻融及超声破碎^[7], 收集上清, 标记为a液; 收集两次包涵体洗涤上清, 分别标记为b、c液; 收集包涵体溶解上清, 标记为d液。4 ℃缓慢透析d液, 除去高浓度的尿素, 使蛋白复性, 以PEG20000浓缩蛋白, BCA法测定蛋白浓度, -80 ℃保存备用。

1.5 C17orf77重组蛋白的Western blot鉴定 C17orf77重组蛋白变性后进行SDS-PAGE电泳, 转膜, 常规封闭; 以鼠抗His单克隆抗体作为一抗, 1:1000稀释; 以羊抗鼠HRP-IgG作为二抗, 1:2000稀释; electrochemiluminescence (ECL) 显影。

1.6 兔抗C17orf77重组蛋白多克隆抗体的制备 体重2.5 kg大耳白兔2只, 以复性的C17orf77重组蛋白对其进行免疫。分别于大耳白兔饲养起始后1、3、4、5周时对其进行免疫, 采用兔颈部、背部、腹股沟多点皮下注射及臀部肌肉注射, 注射剂量依次为C17orf77蛋白1 mg (以等体积弗氏完全佐剂乳

化)、0.5 mg (以等体积弗氏不完全佐剂乳化)、0.5 mg (同第3周)、0.5 mg (同第3周)。于饲养0周、1周、3周、4周时兔耳缘静脉采血, 留血清, 依次记为阴性对照、一免后血清、二免后血清、三免后血清。将4种血清应用ELISA法分析抗体效价。第5周加强免疫3天后, 腹主动脉插管法采集兔全部血清, -80 ℃保存备用。

1.7 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 分析抗体效价 重组蛋白浓度2 μ g/ml, 每孔100 μ l常规包被96孔酶标板 (留1孔作空白对照, 空白对照不包被抗原), 封板4 ℃孵育过夜; 取过夜包被板置37℃孵育1小时; PBST洗板5遍; 每孔加100 μ l PBST-5% BSA, 封闭, 37 ℃孵育2小时; PBST洗板5遍; 依次加入PBST稀释的兔血清 (稀释浓度为1:1250、1:2500、1:5000、1:10000、1:20000、1:40000、1:80000、1:160000、1:320000、1:640000、1:1280000) 100 μ l, 每个浓度选择2个复孔做对比, 同时选择1复孔做阴性对照, 37 ℃孵育2小时; PBST洗板5遍; 每孔加入100 μ l 1:5000 PBST-5% BSA稀释的HRP标记羊抗兔IgG, 37 ℃孵育40分钟; PBST洗板5遍; 加辣根过氧化物酶底物 A、B各50 μ l显色, 37 ℃孵育15分钟, 加终止液50 μ l, 酶标仪490 nm/630 nm紫外光检测。

1.8 兔抗C17orf77多克隆抗体的纯化及抗体特异性检测 利用A蛋白亲和层析法纯化抗体, SDS-PAGE电泳观察抗体浓度及纯度, 测定抗体浓度, 分装, -80 ℃保存备用。C17orf77重组蛋白SDS-PAGE电泳后转膜, 将抗体按不同比例稀释, 作为一抗; 以羊抗兔抗体为二抗, 1:2000稀释; ECL显影。

1.9 MTT细胞增殖实验检测C17orf77重组蛋白对HepG2细胞增殖的影响 收集对数期细胞, 按2000个/孔铺板; 2.5% CO₂, 37 ℃孵育, 至细胞单层铺满孔底, 分别加入浓度为0、0.1、1、10、20、50、100、200 ng/ml的蛋白, 同时设置复孔和调零孔, 培养48小时。每孔加入10 μ l 0.5% MTT溶液, 继续培养4小时后弃上清, 每孔加入150 μ l二甲亚砜 (DMSO), 低速振荡使结晶物充分溶解; 酶联免疫检测仪测量吸光值。利用不同代次细胞重复

54个复孔。

1.10 C17orf77编码蛋白在不同细胞系的分布特征 提取HepG2、L02、LX2、Jurkat细胞总蛋白,变性后进行SDS-PAGE电泳,GAPDH和C17orf77蛋白分别转膜,常规封闭。GAPDH以鼠抗GAPDH单克隆抗体作为一抗,1:1000稀释,以羊抗鼠HRP-IgG作为二抗,1:2000稀释,ECL显影。C17orf77蛋白以所制备兔抗C17orf77多克隆抗体为一抗,1:500稀释,以羊抗兔HRP-IgG作为二抗,1:1000稀释,ECL显影。

1.11 统计学处理 应用SPSS 13.0统计软件,对MTT细胞增殖实验数据进行单因素方差分析(ONE WAY ANOVA), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 C17orf77重组蛋白的表达和鉴定 以人外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)和HepG2细胞cDNA为模板,PCR扩增可得到C17orf77基因除去信号肽部分的片段为669 bp;经Bam H I、Xho I双酶切鉴定及测序,基因片段成功插入pET-32a(+)载体,重组蛋白原核表达载体pET-32a(+)-C17orf77构建成功,见图1。

经Bam H I、Xho I双酶切鉴定,证明pET-32a(+)-C17orf77成功转化入表达菌株大肠埃希菌Rosetta。以30℃ 1 mmol/L IPTG诱导4小时,得到杂蛋白较少的包涵体蛋白。针对重组蛋白His标签进行Western blot证实为目的蛋白,即C17orf77重

组蛋白,见图2。

2.2 C17orf77蛋白多克隆抗体的制备 纯化后的C17orf77多克隆抗体经SDS-PAGE电泳可见,条带清晰,纯度和浓度较高,见图3。ELISA法分析抗体效价,3次测量值和免疫前(即阴性对照)的比值均 > 2.1 ,抗体效价可达1:1 280 000,见表1。Western blot鉴定抗体具有良好的特异性(图3)。

2.3 C17orf77重组蛋白对HepG2细胞增殖的影响 体外培养的HepG2细胞,分别以不同浓度C17orf77重组蛋白刺激后,进行MTT显色,读取各复孔吸光度A值(每组54个复孔)。应用SPSS 13.0统计软件,对数据进行单因素方差分析,结果显示 $P > 0.05$,这表明C17orf77蛋白对HepG2细胞的增殖无明显促进或抑制作用,见图4。

2.4 C17orf77蛋白在不同细胞系的表达特征 Western blot鉴定结果显示,C17orf77蛋白在HepG2、Jurkat、L02、LX2细胞中均有表达,但表达量存在差异。4种细胞系间平行比较,则该蛋白在肝癌细胞HepG2和肝间质细胞LX2表达量相对较高,在人白血病T细胞Jurkat和肝实质细胞L02中表达量低,见图5。

3 讨论

HBV感染宿主后可启动多种免疫反应,以保护机体和清除病毒,同时尽可能减少免疫反应对机体自身的损害。HBV为非致细胞病变性病毒,但HBV感染引起的过度炎症反应及病毒清除过程中对肝细

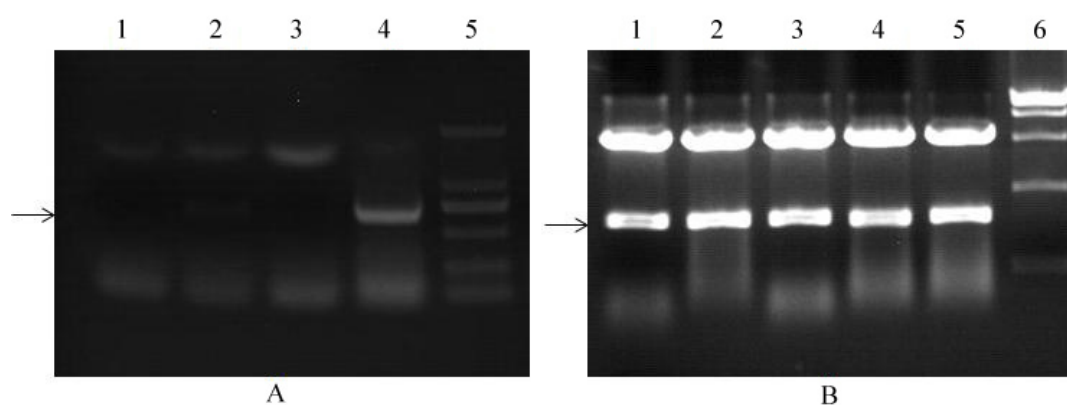


图 1 pET-32a(+)-C17orf77重组表达载体的构建

注: A图为不同细胞cDNA模板扩增C17orf77,其中1为阴性对照,2为PBMC,3为L02,4为HepG2,5为DNA Marker(DL 2000)。B图为pET-32a(+)-C17orf77双酶切鉴定电泳图,其中1~5为不同单克隆菌落质粒双酶切结果,6为DNA Marker(DL 15000)。箭头所指为C17orf77,669 bp

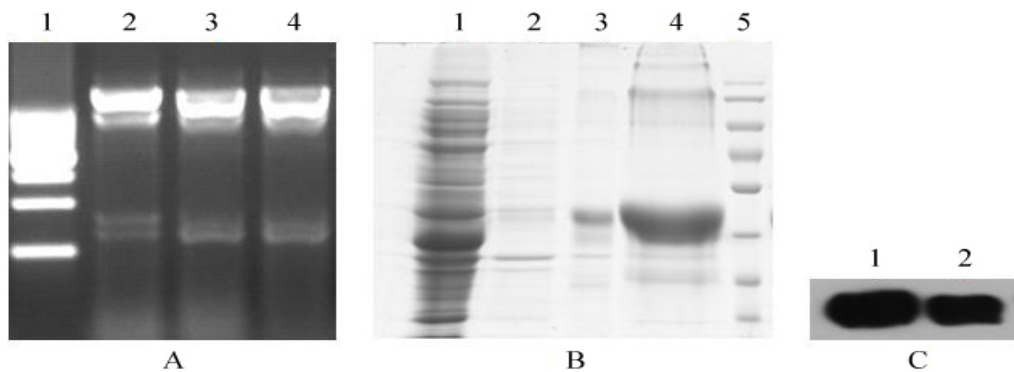


图 2 C17orf77重组蛋白诱导表达结果

注: A图中1为DNA Marker (DL 15000), 2~4为pET-32a (+)-C17orf77转化大肠埃希菌Rossetta双酶切鉴定。B图为蛋白诱导电泳图, 其中1为超声碎菌上清(a液), 2为洗涤液洗涤上清(b液), 3为去离子水洗涤上清(c液), 4为包涵体溶解上清(d液), 最明显的条带为目的蛋白C17orf77, 相对分子质量约43 000, 5为蛋白Marker。C图为C17orf77重组蛋白Western blot鉴定

表 1 多克隆抗体ELISA分析

	抗体滴度					
	1: 5 000	1: 10 000	1: 20 000	1: 80 000	1: 320 000	1: 1 280 000
空白对照	0.136	0.163	0.082	0.151	0.095	0.079
免疫前	3.530	0.465	0.265	0.148	0.118	0.144
第1次免疫	5.460	5.186	5.183	4.990	2.927	0.138
第2次免疫	5.788	6.000	5.806	6.000	4.913	3.080
第3次免疫	5.837	5.644	5.581	5.675	4.982	3.435

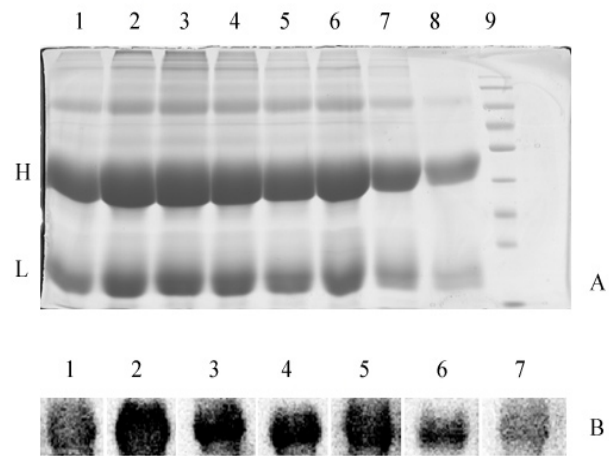


图 3 C17orf77多克隆抗体的纯化及Western blot鉴定

注: A图为纯化C17orf77多克隆抗体SDS-PAGE电泳, 其中1~8为不同浓度的纯化抗体, 9为蛋白Marker; H为重链, L为轻链。B图为抗体特异性Western blot鉴定, 其中1~7抗体稀释浓度依次为: 1: 5000、1: 10 000、1: 20 000、1: 40 000、1: 80 000、1: 160 000、1: 320 000

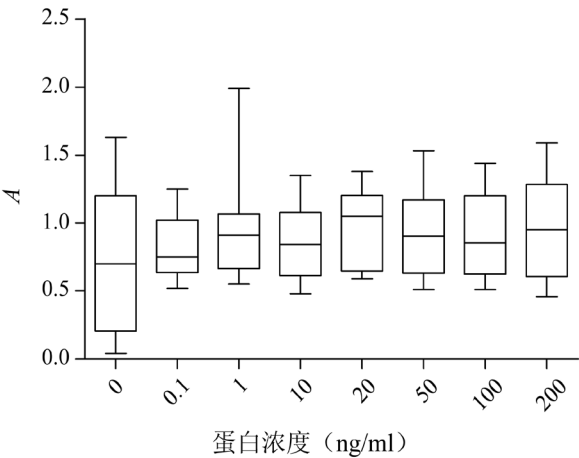


图 4 C17orf77蛋白对HepG2细胞增殖的影响

注: 各组A值均数进行比较, $P > 0.05$

胞的破坏, 往往导致严重的肝细胞损伤。肝脏的炎症损害一旦启动, 若未进行干预, 可进展为肝纤维化、肝硬化, 甚至肝癌^[8]。本研究基因芯片的结果显示, C17orf77基因在转染HBV大蛋白的HepG2细胞中表达上调, 提示该基因可能参与了HBV感染相关肝病的发生发展过程。

生物信息学分析结果显示, 功能未知基因C17orf77位于人类第17号染色体q25.1, 开放读码框

全长729 bp, 编码243 aa, 其中1~19 aa为信号肽, 第136位天冬酰胺为糖基化修饰位点, 是一种分泌糖蛋白。本研究已成功克隆表达了人类功能未知基因C17orf77重组蛋白, 制备了相应的兔抗多克隆抗体, 且证明所制备多克隆抗体具有较高的效价和较强的特异性, 为该基因进一步的功能研究奠定了良好的基础。

HBV感染引起肝细胞损伤的机制十分复杂,

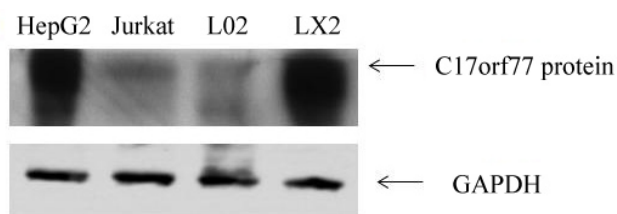


图 5 C17orf77蛋白的细胞系分布特征

注: GAPDH相对分子质量34 000; C17orf77蛋白相对分子质量约27 000

需要机体固有免疫及HBV特异性适应性免疫系统的共同参与。动物模型的研究表明, 肝脏内抗原特异性细胞及其活化的抗原非特异细胞和效应分子共同参与了病毒性肝炎的发生^[9]。同时凋亡、自噬、内质网应激等概念也成为肝细胞损伤新的理论基础^[10,11]。C17orf77蛋白可由正常人外周血单个核细胞cDNA扩增得到, 在人白血病T细胞系Jurkat中也有少量表达, 这表明C17orf77蛋白可作为一种调节因子或效应分子参与HBV感染后机体的免疫过程, 其可能发挥的作用和相应的机制尚有待探讨。

肝细胞是HBV感染的靶细胞, 因此除外机体免疫状态的影响, 肝脏微环境在抗病毒反应中亦占有极其重要的地位。对肝脏局部免疫反应的研究焦点主要集中于肝内淋巴细胞, 然而肝脏2/3细胞为肝实质细胞, 此外还有肝间质细胞、肝窦内皮细胞(liver sinusoidal endothelial cell, LSEC)、肝巨噬细胞(Kupffer细胞)和树突状细胞(dendritic cell, DC)等。这些肝脏细胞也可产生细胞因子, 刺激炎症反应、提呈抗原以及活化T细胞, 但相关机制尚未阐明^[12-14]。因此利用本研究所制备的抗体, 首先观察了该基因编码蛋白在体外培养的不同细胞系内的表达特征。结果显示, C17orf77蛋白在人正常肝细胞系(L02)、肝星状细胞系(LX2)、肝癌细胞系(HepG2)和人白血病T细胞系(Jurkat)均有表达, 但表达量各有差异。HepG2和LX2细胞中表达量较高, L02和Jurkat细胞中表达量低, 而肝癌细胞HepG2中该蛋白表达相对较高, 这提示该基因可能与肝癌发生发展过程相关, 其具体的分子生物学作用和机制还在研究过程中。LX2为肝星状细胞系, 肝星状细胞在肝脏损伤修复

过程及肝纤维化、肝硬化等病理过程中发挥极其重要的作用^[15,16](图5), C17orf77蛋白在肝星状细胞系中存在较高水平的表达。当然, C17orf77蛋白是一种分泌蛋白, 其可能通过自分泌或旁分泌的途径作用于自身或周围细胞, 也可能通过远距离分泌作用于其他组织器官, 发挥不同的生理功能。

根据目前的观察结果, 不同浓度的C17orf77重组蛋白对HepG2细胞的增殖无明显的促进或抑制作用(MTT实验), 这表明C17orf77蛋白可能对HepG2细胞的增殖无影响, 有关该基因对肝实质和间质细胞功能的影响以及其在HBV复制过程中的作用还需要更进一步的研究探索。C17orf77作为一个功能未知的新基因, 其功能可能与HBV感染后的多环节多过程有关, 相应的功能研究还在进行中。

参考文献

- [1] 李国力, 魏红山, 宋淑静, 等. 血管紧张素II对肝星状细胞基因表达的影响[J]. 中华肝脏病杂志, 2006, 12: 914-919.
- [2] Dorobantu C, Macovei A, Lazar C, et al. Cholesterol depletion of hepatoma cells impairs hepatitis B virus envelopment by altering the topology of the large envelope protein[J]. J Virol, 2011, 85: 13373-13383.
- [3] Ni Y, Sonnabend J, Seitz S, et al. The pre-S2 domain of the hepatitis B virus is dispensable for infectivity but serves a spacer function for L-protein-connected virus assembly[J]. J Virol, 2010, 84: 3879-3888.
- [4] Wang NY, Zhang D, Zhao W, et al. Hepatitis B virus large surface protein in serum as a candidate biomarker for evaluating hepatitis B virus infection[J]. Clin Biochem, 2011, 44: 1199-1204.
- [5] Chua PK, Wang RY, Lin MH, et al. Reduced secretion of virions and hepatitis B virus (HBV) surface antigen of a naturally occurring HBV variant correlates with the accumulation of the small S envelope protein in the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus[J]. J Virol, 2005, 79: 13483-13496.
- [6] Douard CL, Trotard M, Seyec JL, et al. The first transmembrane domain of the hepatitis B virus large envelope protein is crucial for infectivity[J]. J Virol, 2009, 83: 11819-11829.
- [7] 乔雍, 常路丝, 魏红莲, 等. 功能未知基因C16orf68在不同肝细胞系内的表达特征[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2011, 20: 327-330.
- [8] Aalaei-Andabili SH, Alavian SM. Regulatory T cells are the most important determinant factor of hepatitis

- B infection prognosis: a systematic review and meta-analysis[J]. Vaccine, 2012, 30: 5595-5602.
- [9] Thompson A, Locarnini S, Visvanathan K. The natural history and the staging of chronic hepatitis B: time for reevaluation of the virus-host relationship based on molecular virology and immunopathogenesis considerations[J]. Gastroenterology, 2007, 133: 1031-1035.
- [10] Chitturi S, Farrell GC. Identifying who is at risk of drug-induced liver injury: Is human leukocyte antigen specificity the key[J]. Hepatology, 2011, 53: 358-362.
- [11] Ding WX, Li M, Chen X, et al. Autophagy reduces acute ethanol-induced hepatotoxicity and steatosis in mice[J]. Gastroenterology, 2010, 139: 1740-1752.
- [12] Kern M, Popov A, Kurts C, et al. Taking off the brakes: T cell immunity in the liver[J]. Trends Immunol, 2010, 31: 311-317.
- [13] Barth H, Rybczynska J, Patient R, et al. Both innate and adaptive immunity mediate protective immunity against hepatitis C virus infection in chimpanzees[J]. Hepatology, 2011, 54: 1135-1148.
- [14] Fiscaro P, Valdatta C, Boni C, et al. Early kinetics of innate and adaptive immune responses during hepatitis B virus infection[J]. Gut, 2009, 58: 974-982.
- [15] 李春霞, 戴立里. 肝星状细胞与肝纤维化研究进展[J]. 国际消化病杂志, 2007, 27: 108-110.
- [16] 何雅军, 舒建昌, 吕霞, 等. 姜黄素预防肝纤维化作用与肝星状细胞的关系[J]. 中华肝脏病杂志, 2006, 14: 337-340.

收稿日期: 2012-11-13

· 消息 ·

《中国肝脏病杂志(电子版)》征稿启事

《中国肝脏病杂志(电子版)》为卫生部主管、人民卫生出版社主办、首都医科大学附属北京地坛医院承办的肝脏病学专业学术电子期刊, 是一本在载体形式上与纸媒体相互补充的多媒体光盘期刊(CD-ROM)。本刊以电子期刊特有的表现形式, 运用影视语言和多媒体技术登载有关肝脏病的专业论著、专家讲坛、临床病理讨论及学术会议等, 图文声像并茂, 是广大肝脏病工作者了解当前学科前沿、掌握最新技术的有效工具。本刊内容主要包括各种肝脏病的病原学、流行病学、免疫学、临床诊断及预防的实践经验 and 研究成果, 以及本领域新技术、新方法的重要进展。本刊常设的主要栏目有述评、专家讲座、论著、指南、继续医学教育、经验交流、短篇报道、综述、临床病理讨论、设备技术介绍、国内外学术动态等。

本刊特色栏目:

(1) 继续医学教育(视频);

(2) 临床病理讨论(病例分析、典型图像分析、专家点评)。

本刊的办刊宗旨是:

贯彻党和国家的卫生工作方针政策, 贯彻理论与实践、普及与提高相结合的办刊方针, 紧跟国际医学发展趋势, 及时反映我国肝脏病临床和科研工作的重大进展, 促进国内外肝脏病学学术交流。

本杂志为季刊, 16开, 64页, 逢季末月20日出版。每期定价20元, 全年定价80元。本刊已被收录为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)。

通讯地址: 北京市朝阳区京顺东街8号《中国肝脏病杂志(电子版)》编辑部

邮编: 100015

电话: 010-84322058

传真: 010-84322059

网址: www.j-ditan.com

Email: editordt@163.com