

· 技术与方法 ·

hfgl2 凝血酶原酶基因 5' 端调控序列的克隆及生物信息学分析*

李学军¹, 张 灏², 李永敢¹, 孙碧红¹

(1. 广西壮族自治区人民医院血液科, 南宁 530021;

2. 哈尔滨血液病肿瘤研究所血液科 150010)

摘要:目的 扩增人纤维蛋白原样蛋白 2(hfgl2)凝血酶原酶基因 5' 端调控序列, 构建荧光素酶报告基因表达载体, 对 hfgl2 基因 5' 侧翼启动子序列进行生物信息学分析, 预测可能的调控区域及顺式作用元件。方法 用聚合酶链反应(PCR)法从人外周血单个核细胞基因组 DNA 中扩增 hfgl2 凝血酶原酶基因 5' 端调控序列, PCR 产物酶切后克隆至 pGL3-Basic 载体, 重组质粒经酶切及测序鉴定, 使用在线分析软件对 5' 端调控序列中的转录因子结合位点及启动子序列进行预测。结果 扩增了长度为 1 567 bp 的 hfgl2 凝血酶原酶基因 5' 端序列, 酶切及测序鉴定证实构建的 pGL3-hfgl2 质粒插入片段正确无误, 分析显示该基因序列共含有 138 个、31 种顺式作用元件。结论 构建 hfgl2 基因近端启动子转录调控序列荧光素酶报告基因的表达载体为研究 hfgl2 的转录调控奠定了基础。

关键词: 转录启动子; 质粒; 转录调控; 纤维蛋白原样蛋白; 顺式作用元件

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.09.018

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)09-0881-03

Cloning of 5' regulatory sequence of hfgl2 prothrombinase gene and its bioinformatic analysis*

Li Xuejun¹, Zhang Hao², Li Yonggan¹, Sun Bihong¹

(1. Department of Hematology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region,

Nanning, Guangxi 530021, China; 2. Department of Hematology, Institute of Oncology and

Hematology of Harbin, Harbin, Heilongjiang 150010, China)

Abstract: Objective To amplify 5' regulatory sequence of human fibrinogen-like protein 2(hfgl2) prothrombinase gene, construct expression vectors with luciferase reporter gene and predict the possible regulation regions and cis-acting elements through bioinformatic analysis of 5' flanking promoter sequences of hfgl2 gene. **Methods** Polymerase chain reaction (PCR) was used to amplified the 5' regulatory sequence of hfgl2 prothrombinase gene from genomic DNA of human peripheral blood mononuclear cells. PCR products was digested and cloned into pGL3-Basic vector. The recombination plasmid was subjected to enzyme digestion and sequencing, and the online analysis software was employed to predict the transcription factor binding sites and the promoter sequences in 5' flanking regulatory sequences. **Results** A length of 1 567 bp 5' flanking sequence of hfgl2 prothrombinase gene was amplified. Enzyme digestion and sequencing confirmed that the constructed plasmid pGL3-hfgl2 insert fragment was correct, and the analysis demonstrated that the gene sequence including a total of 138 cis-acting elements which were in 31 kinds. **Conclusion** Construction of luciferase reporter gene vector containing regulatory sequences of proximal promoter of hfgl2 gene lays a foundation for the study of transcription regulation of hfgl2 gene.

Key words: transcription initiation site; plasmids; transcription regulation; human fibrinogen like protein; cis-acting elements

人纤维蛋白原样蛋白 2(human fibrinogen-like protein 2, hfgl2)凝血酶原酶是新近发现的一种促凝因子, 它可直接激活凝血酶原启动凝血过程, 在功能上相当于因子 X 的作用。研究发现 hfgl2 凝血酶原酶与机体的一些病理过程有关, 如习惯性流产、暴发性肝衰竭及移植排斥反应等^[1-4]。最近的研究表明, hfgl2 凝血酶原酶的激活参与慢性阻塞性肺病的发生^[5]。hfgl2 凝血酶原酶可能参与记忆 T 细胞通过肠道的外渗或迁徙, 并介导 T 细胞对靶细胞的细胞毒作用, 通过多种机制进行免疫调节^[6-8]。因此, 对 hfgl2 凝血酶原酶基因的深入研究, 有助于进一步了解相关疾病的病理生理机制。基因的异常调控常常导致基因在疾病相关细胞中的表达异常, 引起相应的病理生理改变, 目前对 hfgl2 凝血酶原酶基因的表达调控机制的研究尚不深入。本研究采用生物信息学软件初步预测了 hfgl2 凝血酶原酶基因近端启动子序列可能的转录调控位点, 并以萤火虫荧光素酶报告基因质粒为载体构建了相应基因序列的报

告基因质粒, 以进一步研究 hfgl2 凝血酶原酶基因转录调控机制。

1 材料与方法

1.1 质粒与试剂 萤火虫荧光素酶报告基因载体 pGL3-Basic、菌株 *E. coli* DH5 α 、限制性内切酶 *Kpn* I 和 *Hind* III 购自美国 Promega 公司; LA *Taq* 酶及相关聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 试剂、DNA 提取试剂盒、DNA 连接试剂盒购自日本 TaKaRa 公司; DNA 纯化试剂盒、质粒抽提试剂盒购自美国 Omega 公司。

1.2 序列分析与结构预测

1.2.1 hfgl2 凝血酶原酶基因序列的获得 以 human fgl2 为关键词, 搜索美国国立生物技术信息中心核酸数据库, 获得 hfgl2 凝血酶原酶全长 mRNA 序列。以 hfgl2 全长 mRNA 序列进行基本局部对比排列搜索工具 (basic local alignment search tool, BLAST) 分析, 获取人基因组与其同源的基因序

* 基金项目: 广西壮族自治区自然科学基金资助项目(桂科自 0447025)。

列。取基因组序列中包括第一外显子部分序列在内的 1 550 bp(转录起始点上游 1 464 bp 至下游 86 bp)的 hfgl2 凝血酶原酶基因 5'端调控区序列进行序列分析和结构预测。

1.2.2 hfgl2 凝血酶原酶基因近端启动子序列的预测 登陆 <http://rulai.cshl.org/tool/FirstEF/>及 http://www.fruitfly.org/seq_tools/promoter.html,利用在线分析软件对 hfgl2 凝血酶原酶基因 5'端调控区序列中可能的启动子进行预测。

1.2.3 胞嘧啶鸟嘌呤二核苷酸(cytosine guanine dinucleotides, CpG)岛预测 登陆 <http://www.ebi.ac.uk/emboss/cpgplot/>,利用在线分析软件 EMBOSS(CpGPlot/CpGReport/Isochore)对 hfgl2 凝血酶原酶基因 5'端调控区序列中可能的 CpG 岛位置进行预测。

1.2.4 hfgl2 凝血酶原酶基因近端启动子序列顺式作用元件的预测 登陆 <http://www.cbrc.jp/research/db/TFSEARCH.html>,利用在线分析软件 TFSEARCH 对 hfgl2 凝血酶原酶基因 5'端侧翼非翻译区(5'untranslated regions, 5-UTR)基因序列的转录因子结合位点进行预测。

1.3 hfgl2 凝血酶原酶基因近端启动子序列质粒的构建

1.3.1 引物设计与合成 根据 hfgl2 凝血酶原酶基因 -1 464~+86 区域的核苷酸序列,设计扩增该序列的 PCR 引物。上游引物引入 *Kpn*I 酶切位点:5'-GAG GGT ACC CAC GAG GTT CAA ACG TAC TG-3',下游引物引入 *Hind*III 酶切位点:5'-GCA AGC TTC TCT GTT TCA TTG TTT GCC A-3'。引物由 TaKaRa 公司合成。

1.3.2 质粒的构建 按常规方法分离外周血单个核细胞,应用 DNA 提取试剂盒参照说明提取细胞基因组 DNA,以此 DNA 为模板,采用 LA *Taq* 酶扩增相应 DNA 片段。PCR 条件为:95 °C 预变性 5 min 后加入 0.5 U LA *Taq* 酶;94 °C 变性 1 min,60 °C 退火 1.3 min,72 °C 延伸 2 min,共 30 个循环,最后 1 个循环延伸 5 min。取 5 μL PCR 产物于 1% 的琼脂糖凝胶上电泳,观察反应结果。*Kpn*I 和 *Hind*III 双酶切 PCR 产物及载体 pGI3-Basic,回收纯化后,将 PCR 产物与载体大片段进行连接反应,将得到的质粒命名为 pGL3-hfgl2。所构建质粒采用 *Kpn*I 和 *Hind*III 双酶切鉴定,将含有酶切鉴定正确的 *E. coli* DH5α 送交 TaKaRa 公司测序。

2 结 果

2.1 hfgl2 凝血酶原酶基因近端启动子序列的预测 经过分析,hfgl2 凝血酶原酶基因 5'端调控区序列中可能存在 2 处启动子序列,结果见表 1。

表 1 hfgl2 凝血酶原酶基因 5'端调控区序列

启动子序列及位置

基因序列	位置
AAG ACA ATT ATG TCC TTT TAA ATG GGT CTT	-670~-621
AGA CAT TTA GAC ATT TAT A	
CTC AGG CAG CTG CCG CTA TTA AAG CAG CTC	-72~-23
CAG CCC TGC GCG CTC CCT GC	

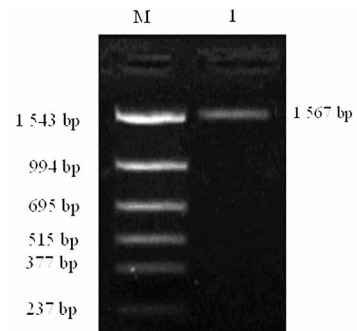
2.2 hfgl2 凝血酶原酶基因的 CpG 岛预测结果 在线分析软件 EMBOSS(CpGPlot/CpGReport/Isochore)在 hfgl2 凝血酶原酶基因 5'端调控区序列中未发现 CpG 岛。

2.3 hfgl2 凝血酶原酶基因近端启动子序列顺式作用元件的预测 设定阈值大于 90 分,显示在 hfgl2 凝血酶原酶基因 -1 464~+84 区域共有 138 个、31 种转录因子结合位点,其中具有高阈值的转录因子结合位点包括加帽位点(CAP site)、

热休克转录因子(heat shock transcription factor, HSF)、尾侧同源转录因子 A(caudal type homeobox transcription factor A, CdxA)、应激反应元件(stress response element, STRE)、Y 染色体性别决定区(sex-determining region of Y-chromosome, SRY)、腈水解酶家族成员 2(nitrilase family, member 2, NIT2)、deltaE、GATA-2、激活蛋白-1(activating protein-1, AP-1)、辅助转录因子 p300 以及乙醇脱氢酶基因调节因子(alcohol dehydrogenase gene regulator 1, ADR1)。其中阈值为 99 分的转录因子结合位点见表 2。

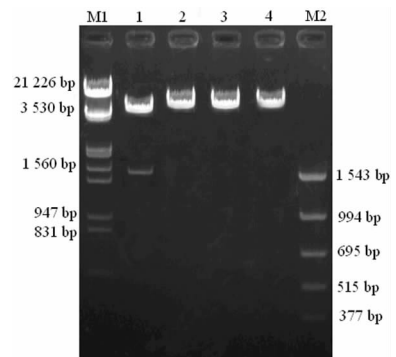
表 2 阈值为 99 分的转录因子结合位点

基因位置	转录因子	基因序列	预测位点
-1 464~-1 100	CAP	TCA TTC CT	-1 443~-1 435
	HSF	AGA AA	-1 424~-1 420
	CdxA	CAT AAA T	-1 192~-1 186
	STRE	TAA GGG GA	-1 234~-1 226
-1 099~-800	SRY	AAA ACA AAA	-1 000~-993
	HSF	AGA AA	-800~-795
-799~-500	CdxA	ATT TAT A	-599~-593
	HSF	AGA AA	-551~-547
-499~-200	deltaE	TTT CAC CTGAA	-493~-483
	ADR1	GCC CCA	-459~-453
	NIT2	TAT CTT	-367~-362
-199~+84	GATA-2	GGC TAT CTC CT	-152~-142
	AP-1	CTG ACT CAG	-76~-57
	p300	TGC GCA CTC CCT GC	-36~-23



M: Marker, 1: hfgl2 凝血酶原酶基因。

图 1 hfgl2 凝血酶原酶基因 5'端调控区序列 PCR 扩增电泳图



M1: λDNA, *Eco*R I + *Hind* III; 1: *Kpn*I、*Hind* III 双酶切 pGL3-hfgl2, 可见切开的 hfgl2 凝血酶原酶基因; 2: *Kpn*I 单酶切 pGL3-Basic; 3: *Hind* III 单酶切 pGL3-Basic; 4: pGL3-hfgl2 重组质粒; M2: PCR marker。

图 2 hfgl2 凝血酶原酶基因 5'端调控区序列质粒酶切图

2.4 重组质粒的克隆与鉴定 以 HL-60 细胞基因组 DNA 为模板,PCR 扩增获得长度为 1 567 bp 的 hfgl2 凝血酶原酶基因 -1 464~+84 序列,与设计长度一致,结果见图 1。将 PCR 扩增基因片段插入 pGL3-Basic 载体得到重组质粒 pGL3-hfgl2,用 *Kpn*I 和 *Hind*III 双酶切质粒得到 1 560 bp 大小的 DNA 片段,与设计的插入序列大小一致,结果见图 2。测序结果显示各插入片段与 GenBank 公布的序列完全一致,见图 3。

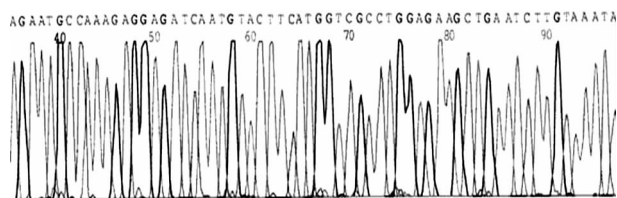


图 3 重组质粒 pGL3-hfgl2 的部分测序图

3 讨论

基因表达是指基因在生物体内的转录、剪接、翻译以及转变成具有生物活性的蛋白质分子之前的所有加工过程,转录是基因表达的第一步。转录调控因子,也称为反式作用因子,有序地结合在特定基因 5'端侧翼调控序列特殊位点,启动基因的转录和控制基因的转录效率,这些位点即转录因子结合位点或顺式调控元件。每个转录因子的结合位点都有特定的结合模式,找到这些特定的序列片段对研究基因的转录调控有着重要意义^[9]。

肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α)、干扰素 α (interferon α , IFN- α)等辅助性 T 细胞(helper T cell, Th)1 型细胞因子与小鼠及人类自发性流产密切相关,二者单独或联合应用都可诱发小鼠的流产,细胞因子通过触发炎症/血栓形成过程导致流产的发生,推测在人类自发性流产中也存在相同的机制^[1,10-12]。在同种异体移植所引起的急性排斥反应中,细胞因子通过激活 fgl2 凝血酶原酶而介导内皮细胞的损伤,使内皮细胞损伤—凝血—炎症反应—内皮损伤的恶性病理循环发生,导致移植排斥反应^[3]。这些细胞因子通过胞膜或细胞内受体经细胞内信号转导系统转换,改变靶基因的转录活性,诱发细胞特定的应答反应。而细胞内受体分布于细胞质或细胞核内,本质上都是配体调控的转录因子,均在细胞核内启动信号转导并影响基因转录。

hfgl2 凝血酶原酶基因定位在染色体 7q11.23,全长约 7 kb,有 2 个外显子,中间有 1 个长度约 2.2 kb 的内含子。hfgl2 凝血酶原酶有 2 种 mRNA 转录本,长度分别为 4.4 kb 和 1.5 kb,其 cDNA 全长为 1 320 bp,编码的蛋白质由 439 个氨基酸组成。通过对鼠血管内皮细胞 fgl2 凝血酶原酶启动子活性的研究显示,fgl2 凝血酶原酶的表达受其近侧启动子序列中的顺式元件调控,在多个反式因子的协同作用下,共同调节内皮细胞的基础表达和对病毒诱导的反应^[13-14],其基因 5'端调控区存在的正性调控结构域(positive regulatory domain, PRD)与转录密切相关,PRD 位于起始位点 -87~-39 位碱基,研究表明在 PRD 形成的核蛋白复合物包括特异蛋白(specificity protein, Sp)1/Sp3 家族成员、八聚体结合转录因子(octamer-binding transcription factor-1, Oct-1)和 E26 转录因子-1(E26 transformation-specific-1, Ets-1)等^[15]。本研究显示,hfgl2 凝血酶原酶基因 5'调控区序列中可能存在 2 处启动子序列,分别

位于 -670~-621 和 -72~-23 位碱基。在 hfgl2 凝血酶原酶基因 -1 464~+84 区域共有 138 个、31 种转录因子结合位点,究竟哪个启动子序列在转录调控中发挥主导作用以及转录因子对启动子有何影响尚有待进一步研究。

CpG 岛是基因组中长度为 300~3 000 bp 的富含 CpG 二核苷酸的一些区域,主要位于基因的启动子和第一外显子区域,常出现在真核生物看家基因(house-keeping gene)的调控区,约有 60%以上基因的启动子含有 CpG 岛。启动子区中 CpG 岛的未甲基化状态是基因转录所必需的,而 CpG 序列中胞嘧啶的甲基化可导致基因转录被抑制。本研究通过在线软件分析 hfgl2 凝血酶原酶基因 5'端侧翼调控序列,所分析的区域无 CpG 岛存在,表明该基因的调控可能不受 CpG 岛的甲基化影响^[5]。

双荧光素酶报告系统是用以研究基因转录活性的,荧光素酶报告基因载体用萤火虫荧光素酶基因作为报告基因,可对启动子及增强子序列作快速及方便的分析,荧光素酶报告基因载体转染到细胞中,可用荧光素酶检测系统灵敏方便地测定荧光素酶基因的表达,pGL3 载体含猴空泡病毒 40(simian vacuolating virus 40, SV40)启动子及增强子的不同组合,有助于分析 DNA 片段的转录活性。本实验成功构建了 hfgl2 凝血酶原酶基因近端启动子转录调控序列荧光素酶报告基因表达载体,为研究该基因 5'端侧翼调控序列的各段 DNA 的调控活性奠定了基础。

参考文献:

- [1] Yu G, Sun Y, Foerster K, et al. LPS-induced murine abortions require C5 but not C3, and are prevented by upregulating expression of the CD200 tolerance signaling molecule[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2008, 60(2): 135-140.
- [2] Foerster K, Helmy A, Zhu Y, et al. The novel immunoregulatory molecule FGL2: a potential biomarker for severity of chronic hepatitis C virus infection[J]. *J Hepatol*, 2010, 53(4): 608-615.
- [3] Ning Q, Sun Y, Han M, et al. Role of fibrinogen-like protein 2 prothrombinase/fibroleukin in experimental and human allograft rejection[J]. *J Immunol*, 2005, 174(11): 7403-7411.
- [4] Gao S, Wang M, Ye H, et al. Dual interference with novel genes mfgl2 and mTNFR1 ameliorates murine hepatitis virus type 3-induced fulminant hepatitis in BALB/c mice[J]. *Hum Gene Ther*, 2010, 21(8): 969-977.
- [5] Liu Y, Xu S, Xiao F, et al. The FGL2/fibroleukin prothrombinase is involved in alveolar macrophage activation in COPD through the MAPK pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 396(2): 555-561.
- [6] Shalev I, Wong KM, Foerster K, et al. The novel CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cell effector molecule fibrinogen-like protein 2 contributes to the outcome of murine fulminant viral hepatitis[J]. *Hepatology*, 2009, 49(2): 387-397.
- [7] Liu H, Shalev I, Manuel J, et al. The FGL2-Fc γ RIIIB pathway: a novel mechanism leading to immunosuppression[J]. *Eur J Immunol*, 2008, 38(11): 3114-3126. (下转第 887 页)

神经胶质瘤 I ~ II 级中的表达明显低于在神经胶质瘤 III ~ IV 级中的表达,因此认为 CTGF 可能在神经胶质瘤的发生、发展过程中发挥一定作用。而近年 Caltabiano 等^[16]的研究却发现级别越高的星型神经胶质瘤中 Cx43 的表达越高,可见 Cx43 在神经胶质瘤的发展过程中具有重要的作用。作者希望通过构建重组过表达 Cx43 质粒,将其转移到神经胶质瘤细胞,改变其 Cx43 的表达,为下一步进行神经胶质瘤体内的侵袭性研究奠定实验基础。

参考文献:

- [1] Liao Y, Day KH, Damon DN, et al. Endothelial cell-specific knockout of connexin 43 causes hypotension and bradycardia in mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98 (17): 9989-9994.
- [2] Söhl G, Willecke K. Gap junctions and the connexin protein family [J]. *Cardiovasc Res*, 2004, 62(2): 228-232.
- [3] van Veen AA, van Rijen HV, Opthof T. Cardiac gap junction channels: modulation of expression and channel properties [J]. *Cardiovasc Res*, 2001, 51(2): 217-229.
- [4] Yancey SB, John SA, Lal R, et al. The 43-kD polypeptide of heart gap junctions: immunolocalization, topology, and functional domains [J]. *J Cell Biol*, 1989, 108(6): 2241-2254.
- [5] Saez JC, Berthoud VM, Branes MC, et al. Plasma membrane channels formed by connexins: their regulation and functions [J]. *Physiol Rev*, 2003, 83(4): 1359-1400.
- [6] Wang H, Hong T, Wang H, et al. Altered expression of connexin43 and its possible role in endothelin-1-induced contraction in rabbit basilar artery [J]. *Neurol Res*, 2009, 31(1): 67-73.
- [7] Hong T, Wang H, Wang Y, et al. Effects of gap junctional blockers on cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in rabbits [J]. *Neurol Res*, 2009, 31(3): 238-244.
- [8] 张永明,漆松涛,黄广龙,等. 缝隙连接蛋白 Cx43 在爆炸伤兔脑组织中的表达 [J]. *中国微侵袭神经外科杂志*, 2010, 6(15): 279-281.
- [9] Garbelli R, Frassoni C, Condorelli DF, et al. Expression of connexin 43 in the human epileptic and drug-resistant cerebral cortex [J]. *Neurology*, 2011, 76(10): 895-902.
- [10] Johnstone SR, Ross J, Rizzo MJ, et al. Oxidized phospholipid species promote in vivo differential cx43 phosphorylation and vascular smooth muscle cell proliferation [J]. *Am J Pathol*, 2009, 175(2): 916-924.
- [11] Kawasaki A, Hayashi T, Nakachi K, et al. Modulation of connexin 43 in rotenone-induced model of Parkinson's disease [J]. *Neuroscience*, 2009, 160(1): 61-68.
- [12] 张纪. 深入开展胶质瘤综合治疗及其基础研究 [J]. *中华神经外科杂志*, 2003, 19(1): 1-2.
- [13] 朱丽丽. 王忠诚院士解读脑胶质瘤 [J]. *抗癌之窗*, 2010 (1): 17-18.
- [14] Ding T, Ma Y, Li W, et al. Role of aquaporin-4 in the regulation of migration and invasion of human glioma cells [J]. *Int J Oncol*, 2011, 38(6): 1521-1531.
- [15] Xie D, Yin D, Wang HJ, et al. Levels of expression of CYR61 and CTGF are prognostic for tumor progression and survival of individuals with gliomas [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(6): 2072-2081.
- [16] Caltabiano R, Torrisi A, Condorelli D, et al. High levels of connexin 43 mRNA in high grade astrocytomas. Study of 32 cases with in situ hybridization [J]. *Acta Histochem*, 2010, 112(6): 529-535.

(收稿日期: 2011-09-28 修回日期: 2011-12-29)

(上接第 883 页)

- [8] Shalev I, Liu H, Kosciak C, et al. Targeted deletion of fgl2 leads to impaired regulatory T cell activity and development of autoimmune glomerulonephritis [J]. *J Immunol*, 2008, 180(1): 249-260.
- [9] 许丽艳. 转录调控的信息学分析 [M] // 李霞. 生物信息学. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 296-316.
- [10] Knackstedt MK, Zenclussen AC, Hertwig K, et al. Th1 cytokines and the prothrombinase fgl2 in stress-triggered and inflammatory abortion [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2003, 49(4): 210-220.
- [11] Hancock WW, Szaba FM, Berggren KN, et al. Intact type 1 immunity and immune-associated coagulative responses in mice lacking IFN gamma-inducible fibrinogen-like protein 2 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(9): 3005-3010.
- [12] Su K, Chen F, Yan WM, et al. Fibrinogen-like protein 2/fibroleukin prothrombinase contributes to tumor hypercoagulability via IL-2 and IFN-gamma [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(39): 5980-5989.
- [13] Yuwaraj S, Ding J, Liu M, et al. Genomic characterization, localization, and functional expression of FGL2, the human gene encoding fibroleukin: a novel human procoagulant [J]. *Genomics*, 2001, 71(3): 330-338.
- [14] Han M, Yan W, Guo W, et al. Hepatitis B virus-induced hFGL2 transcription is dependent on c-Ets-2 and MAPK signal pathway [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(47): 32715-32729.
- [15] Ning Q, Lakatoos S, Liu M, et al. Induction of prothrombinase fgl2 by the nucleocapsid protein of virulent mouse hepatitis virus is dependent on host hepatic nuclear factor-4 alpha [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(18): 15541-15549.

(收稿日期: 2011-09-23 修回日期: 2011-10-08)