

DOI:10.13350/j.cjpb.240903

• 论著 •

# 人7型腺病毒 Hexon 蛋白原核表达及蛋白纯化\*

方瑞康<sup>1,2</sup>,肖妍<sup>2,3</sup>,李菁菁<sup>2</sup>,金宁一<sup>3</sup>,鲁会军<sup>3</sup>,李一权<sup>2\*\*</sup>,高旭<sup>1\*\*</sup>,韩继成<sup>2,3\*\*</sup>

(1. 延边大学农学院动物医学系,吉林延边 133000;2. 长春中医药大学科研处院士工作室;3. 中国农业科学院长春兽医研究所)

**【摘要】** 目的 将人7型腺病毒(Human Adenovirus-7, HAdV-7)六邻体蛋白(Hexon)通过原核表达系统进行表达,筛选不同时间、浓度、温度诱导下的最佳表达条件,并进行蛋白纯化研究。方法 通过PCR扩增获得Hexon目的基因,并将目的基因克隆至原核表达载体pET30a(+),构建pET30a-Hexon重组质粒,转化至宿主菌BL21(DE3)。经IPTG诱导表达,筛选蛋白表达条件,利用His标签镍离子蛋白纯化柱纯化蛋白。结果 RT-PCR结果显示可扩增出2805 bp Hexon目的片段,将Hexon目的基因成功克隆至pET30a(+)载体,转化至BL21(DE3),成功构建pET30a-Hexon重组蛋白;筛选出pET30a-Hexon重组蛋白的最佳表达条件为34℃、1 mmol/L诱导剂诱导8 h,重组蛋白以包涵体的形式进行表达,通过His标签镍离子纯化柱可纯化出目的蛋白。结论 成功表达pET30a-Hexon重组蛋白,筛选出最佳诱导条件并纯化出Hexon目的蛋白,为研究制备单克隆抗体及新型疫苗的开发提供了理论依据。

**【关键词】** 人7型腺病毒;Hexon;原核表达;蛋白纯化**【文献标识码】** A**【文章编号】** 1673-5234(2024)09-1004-05

[Journal of Pathogen Biology. 2024 Sep.;19(9):1004-1008.]

## Prokaryotic expression and purification of Hexon gene of Human Adenovirus-7

FANG Ruikang<sup>1,2</sup>, XIAO Yan<sup>2,3</sup>, LI Jingjing<sup>2</sup>, JIN Ningyi<sup>3</sup>, LU Huijun<sup>3</sup>, LI Yiquan<sup>2</sup>, GAO Xu<sup>1</sup>, HAN Jicheng<sup>2,3</sup> (1. Department of Veterinary Medicine, Agricultural College, Yanbian University, Yanbian 133000, Jilin, China; 2. Academician Workstation, Changchun University of Chinese Medicine; 3. Changchun Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences)

**【Abstract】** Objective To express the six-neighbourhood protein (Hexon) of Human Adenovirus-7 (HAdV-7) through a prokaryotic expression system, to screen the optimal expression conditions under different time, concentration, and temperature induction, and to study the protein purification. Methods The target gene of Hexon was obtained by PCR amplification, and the target gene was cloned into the prokaryotic expression vector pET30a (+), constructed the pET30a-Hexon recombinant plasmid, and transformed into the host bacterium BL21 (DE3). The expression was induced by IPTG, the protein expression conditions were screened, and the protein was purified using His-tagged nickel ion protein purification column. Results RT-PCR results showed that 2805 bp Hexon target fragment could be amplified, and the Hexon target gene was successfully cloned into pET30a(+) vector, transformed into BL21(DE3), and pET30a-Hexon recombinant protein was successfully constructed; the optimal expression conditions for the pET30a-Hexon recombinant protein were screened to be 34℃, 1 mmol/L inducer induced for 8 h, and the recombinant protein was expressed as inclusion bodies, and the target protein could be purified by His-tagged nickel ion purification column. Conclusion In this experiment, pET30a-Hexon recombinant protein was successfully expressed, and the optimal induction conditions were screened and the target protein of Hexon was purified, which provided a theoretical basis for the study of preparing monoclonal antibodies and the development of novel vaccines.

**【Keywords】** Human Adenovirus-7; Hexon; prokaryotic expression; protein purification

\*\*\*人腺病毒(human adenovirus, HAdV)属于腺病毒科哺乳动物腺病毒属,HAdV最早发现于1953年,1956年被国际病毒命名委员会正式命名为人腺病毒<sup>[1]</sup>。HAdV主要引起人类呼吸道感染。婴儿及免疫功能低下人群是易感群体,容易在医院、学校、军营等场所引起大范围感染<sup>[2]</sup>。临床表现包括呼吸道感染、病毒性胃肠炎等,易与其他病毒或细菌引起并发症,如中枢神经系统功能障碍、急性呼吸窘迫综合征等危重疾病<sup>[3-8]</sup>。HAdV可分为A~G7个不同亚群,其

\* 【基金项目】 吉林省青年科技人才托举工程项目(No. QT202228);吉林省教育厅科学技术研究项目(JJKH20241039KJ)。

\*\* 【通讯作者】 韩继成,E-mail:373108406@qq.com  
高旭,E-mail:gaoxu@ybu.edu.cn  
李一权,E-mail:liyq01@ccucm.edu.cn

【作者简介】 方瑞康(1999-),男,吉林延边人,硕士研究生,主要研究方向为分子生物学与免疫学研究。  
E-mail:1457825713@qq.com

中,HAdV-7 属于 7 个亚群中的 B 群,是引起全球范围内急性呼吸道感染的常见病原体,儿童重症腺病毒肺炎最常见的基因型<sup>[9-14]</sup>。由 HAdV-7 引起的感染占到人腺病毒感染的 20%,近年来多次暴发且引起的重症多而广受关注<sup>[15]</sup>。

HAdV-7 结构上是无包膜包被,核衣壳呈二十面体立体对称的双链线性 DNA 病毒,HAdV-7 的表面由三种结构蛋白组成:纤维蛋白(Fiber),五邻体蛋白(Penton)和六邻体蛋白(Hexon)。其中,Hexon 是腺病毒的主要结构蛋白,富含 900 多种羟基氨基酸,蛋白表面含有大量特异性抗原表位,是编码 HAdV 参与抗原-抗体特异性结合的主要结构<sup>[16-17]</sup>。因此,Hexon 蛋白在 HAdV-7 相关抗体的制备过程中起着至关重要的作用。

目前市面上还未见针对 HAdV 感染的特效疫苗,且 7 型腺病毒较其他血清型腺病毒相比更容易造成婴幼儿感染致死。因此,研发 HAdV-7 基因工程疫苗对婴幼儿健康意义重大,本研究通过原核表达系统成功表达并纯化 Hexon 蛋白,为 HAdV-7 单克隆抗体与多克隆抗体制备以及相关疫苗的研发等研究奠定基础。

## 材料与方法

### 1 材料

**1.1 菌种、质粒** *E. coli* BL21(DE3) 化学感受态细胞购自生工生物工程股份有限公司;原核表达载体 pET30a(+)由本实验室保存。

**1.2 主要试剂** EcoR I、Xho I 限制性内切酶,10×Fast Digest Green Buffer 均购自 Thermo Scientific 公司;IPTG 购自 Solarbio 公司;鼠源 His 单克隆抗体、HRP 标记的山羊抗鼠 IgG 抗体购自 Cell Signaling 公司;DL2000 DNA Marker 购自 TIANGEN 公司;金牌 Mix 购自 TsingKE 公司;考马斯亮蓝染色液购自碧云天公司;组氨酸标签镍离子蛋白纯化柱购于常州天地人和生物科技有限公司。

### 2 方法

**2.1 重组表达质粒 pET30a-Hexon 的构建和鉴定** 将 Hexon 基因片段送至生工生物工程股份有限公司合成。将合成的质粒作为模板,利用 Hexon 引物对目的基因进行 PCR 扩增。Hexon 引物(2 805 bp): Hexon-FP: 5'-CCGCTCGAGATGGCCACCCATCG A-3'(Xho I); Hexon-RP: 5'-CCGGATTCTTATG TGGTGGCGTTGCCGG-3'(EcoR I);下划线部分为酶切位点,括号内为酶切位点名称。PCR 反应体系为 50 μL:金牌 Mix(green)45 μL,10 μmol/L Primer A 2 μL,10 μmol/L Primer B 2 μL,模板 1 μL;Hexon 基

因的扩增条件为:98 °C 预变性 2 min,98 °C 变性 10 s,55 °C 退火 10 s,72 °C 延伸 30 s,30 个循环;72 °C 延伸 1 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳,将目的片段回收,并连接到 pET30a(+)上,获得重组质粒 pET30a-Hexon。使用限制性内切酶 EcoR I / Xho I 双酶切 pET30a-Hexon,将双酶切产物进行凝胶电泳。通过 PCR 扩增 pET30a-Hexon 的 Hexon 片段,获得的 PCR 产物送往生工生物工程股份有限公司进行测序。鉴定正确的 pET30a-Hexon 质粒转化至 *E. coli* BL21(DE)感受态,挑取阳性单克隆菌落接种于卡那霉素抗性(Kana<sup>+</sup>)的 LB 液体培养基中震荡过夜培养后,提取质粒鉴定并用甘油混合保存菌液。

**2.2 Hexon 重组蛋白诱导表达** 将保存的重组菌液 pET30a-Hexon 复苏扩培,在 37 °C、220 rpm 转速下震荡培养至菌液 A<sub>600</sub> 为 0.6~0.8 时,加入 IPTG 进行诱导表达,收集诱导后的菌液进行超声破碎,再分别通过 SDS-PAGE 和 Western blot (WB) 实验分析 Hexon 的表达情况,WB 实验中使用鼠源 His 标签抗体作为一抗。

**2.3 Hexon 重组蛋白表达形式分析** 将保存的重组菌液 pET30a-Hexon 复苏扩培加入 IPTG 诱导剂过夜培养后收集菌液,12 000 r/min(离心半径 5 cm)离心 2 min,收集超声前菌液上清液。经超声破碎后,12 000 r/min 离心 7 min,收集超声后菌液上清液,取适量 PBS 重悬沉淀,分别取超声前菌液上清、超声后菌液上清、细菌包涵体与 5×Loading Buffer 混合制备蛋白样品,用 12.5% 的分离胶进行 SDS-PAGE 实验。

**2.4 Hexon 重组蛋白表达条件优化** 取 100 μL pET30a-Hexon 重组菌接种至 10 mL 卡那霉素抗性(Kana<sup>+</sup>)的 LB 液体培养基中,37 °C、220 rpm 震荡培养至菌液 A<sub>600</sub> 为 0.6~0.8 时,加入 1 mmol/L 浓度的 IPTG 诱导。在诱导 2,4,6,8,10,12 h 取等量的菌液,超声破碎后与 5×Loading Buffer 混合制备蛋白样品,用 12.5% 的分离胶进行 SDS-PAGE 实验,考马斯亮蓝染液染色后筛选诱导表达的最佳时间。

**2.5 优化诱导剂浓度** 将保存的重组菌液复苏扩培(参照 2.4 的方法),37 °C、220 rpm 震荡培养至菌液 A<sub>600</sub> 为 0.6~0.8 时,分别加入 0.5,0.75,1,1.25,1.5 mmol/L 浓度的 IPTG 进行诱导表达,诱导 8 h 后收集菌液,超声破碎后制备蛋白样品,用 12.5% 分离胶进行 SDS-PAGE 实验,筛选最佳诱导剂浓度。

**2.6 优化诱导温度** 将保存的重组菌液复苏扩培(参照 2.4 的方法),37 °C、220 rpm 震荡培养至菌液 A<sub>600</sub> 为 0.6~0.8 时,加入 1.25 mmol/L 的 IPTG 诱导剂,在 30、34、37 °C 温度下诱导 8 h,收集菌液,超声破碎后制备蛋白样品,用 12.5% 的分离胶进行 SDS-PAGE

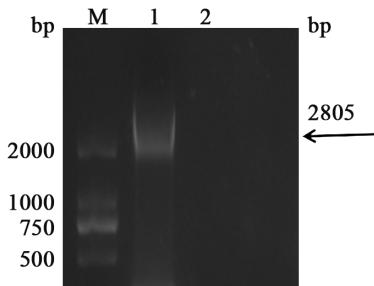
实验,筛选最佳诱导温度。

**2.7 Hexon蛋白纯化** 复苏大量 pET30a-Hexon 重组菌,转移至培养基中,于 37 °C 条件下震荡培养至菌液 A<sub>600</sub> 为 0.6~0.8 时,加入 1.25 mmol/L 的 IPTG 诱导剂,培养 8 h,收集蛋白。参照说明书利用 Ni<sup>2+</sup>-NTA 组氨酸蛋白纯化柱进行纯化,超声破碎后制备蛋白样品,用 12.5% 分离胶进行 SDS-PAGE 实验,分析蛋白纯化效果。

## 结 果

### 1 重组表达质粒 pET30a-Hexon 的鉴定

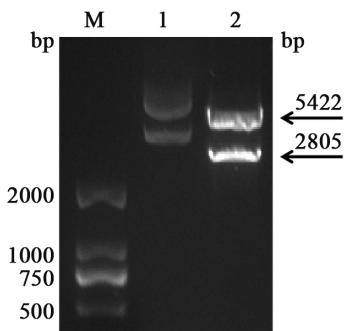
pET30a-Hexon 质粒为模板进行 PCR 鉴定,结果显示扩增出约 2 805 bp 的产物,条带与预期大小一致(图 1)。将 pET30a-Hexon 质粒用限制性内切酶 EcoR I / Xho I 双酶切鉴定,结果表明 Hexon 基因片段成功克隆至 pET30a(+)载体(图 2)。



M DL2000 DNA Marker 1 Hexon PCR 产物 2 阴性对照  
图 1 Hexon 基因扩增结果

M DL2000 DNA Marker 1 Hexon PCR products 2 Negative control

Fig. 1 Hexon gene amplification results



M DL2000 DNA marker 1 pET30a-Hexon 重组质粒 2 pET30a-Hexon 质粒酶切产物

图 2 重组质粒 pET30a-Hexon 双酶切鉴定

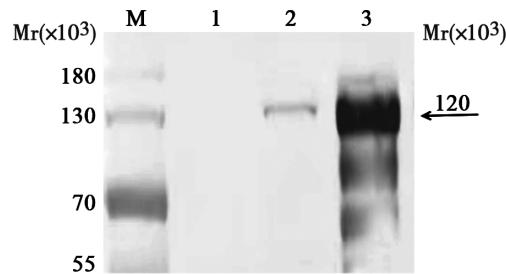
M DL2000 DNA marker 1 pET30a-Hexon recombinant plasmid 2 pET30a-Hexon plasmid digest product

Fig. 2 Identification of recombinant plasmid pET30a-Hexon double digestion

### 2 Hexon 重组蛋白诱导表达

将保存的重组菌液复苏扩培,加入 IPTG 诱导表达,收取诱导后的菌液制备蛋白样品,Western blot 实验结果表明 pET30a-Hexon 重组菌经 IPTG 诱导后在

约 120 ku 处有一条明显可见的单一条带(图 3)。



M 蛋白 marker 1 pET30a 空载体 2 pET30a-Hexon 诱导前 3 pET30a-Hexon 诱导后

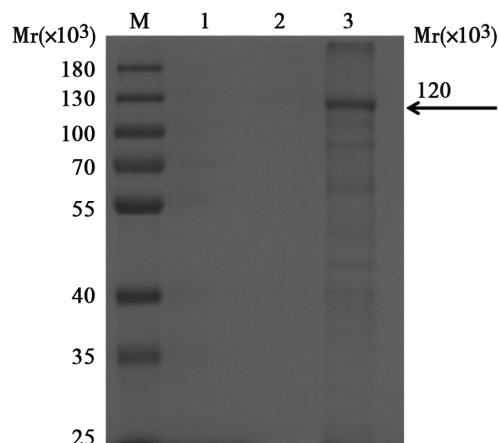
图 3 HAdV-7 Hexon 蛋白表达 Western blot 验证结果

M Protein marker 1 pET30a empty carrier 2 Before induction of pET30a-Hexon 3 After induction by pET30a-Hexon

Fig. 3 Results of Western blot validation of HAdV-7 Hexon protein expression

### 3 Hexon 重组蛋白表达形式分析

复苏 pET30a-Hexon 重组菌,离心后取适量上清液,再进行超声破碎,获取超声破碎后的菌液上清与包涵体进行 SDS-PAGE 实验,结果表明,pET30a-Hexon 重组蛋白以包涵体的形式表达(图 4)。



M 蛋白 marker 1 pET30a-Hexon 超声前菌液上清 2 pET30a-Hexon 超声后菌液上清 3 pET30a-Hexon 重组菌包涵体

图 4 HAdV-7 Hexon 蛋白表达形式验证结果

M Protein marker 1 pET30a-Hexon pre-sonication bacterial liquid supernatant 2 pET30a-Hexon supernatant of bacterial fluid after sonication 3 pET30a-Hexon recombinant bacterial inclusion bodies

Fig. 4 Validation results of HAdV-7 Hexon protein expression form

### 4 Hexon 重组蛋白表达优化诱导时间

将 pET30a-Hexon 重组菌于诱导后不同时间点(2、4、6、8、10、12 h)取适量的菌液,超声破碎后制备蛋白样品,进行 SDS-PAGE 实验,结果表明;pET30a-Hexon 重组菌在诱导 8 h 时表达量最高(图 5)。

### 5 Hexon 重组蛋白表达优化诱导剂浓度

向复苏的 pET30a-Hexon 重组菌中加入不同浓度(0.5、0.75、1、1.25、1.5 mmol/L)的 IPTG 诱导剂,超声破碎后进行 SDS-PAGE 实验,结果表明 pET30a-

HHexon 重组菌在诱导剂浓度等于 1 mmol/L 时表达量最高(图 6)。

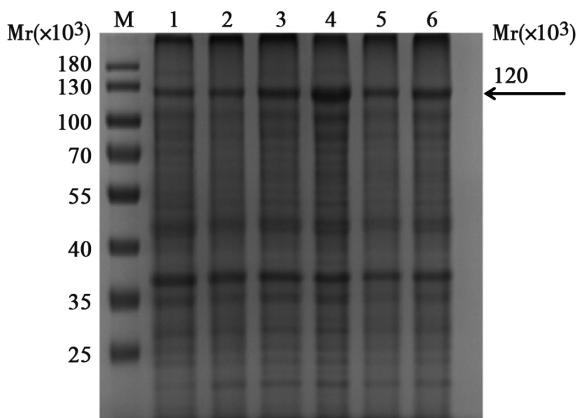


图 5 HAdV-7 Hexon 蛋白诱导表达时间分析结果  
(2, 4, 6, 8, 10, 12 h)

Fig. 5 Results of time analysis of HAdV-7 Hexon protein induced expression (2, 4, 6, 8, 10, 12 h)

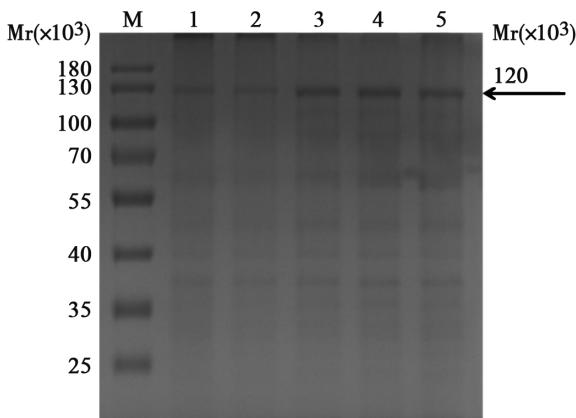


图 6 HAdV-7 Hexon 蛋白诱导剂浓度分析结果  
(0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5 mmol/L)

Fig. 6 Results of HAdV-7 Hexon protein inducer concentration analysis (0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5 mmol/L)

## 6 Hexon 重组蛋白表达优化诱导温度

将 pET30a-Hexon 重组菌在不同温度(30、34、37 °C)下诱导 8 h, 将收集的菌液超声破碎后进行 SDS-PAGE 试验, 结果表明 pET30a-Hexon 重组菌在 34 °C 诱导时表达量最高(图 7)。

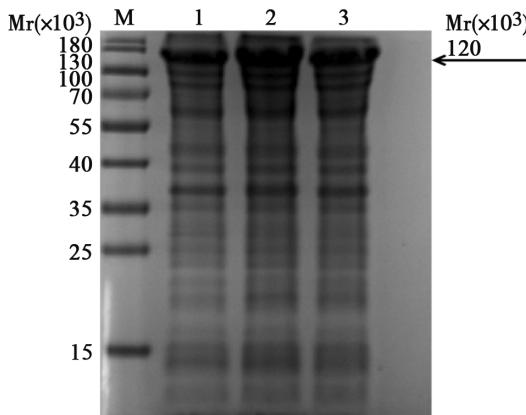
## 7 Hexon 重组蛋白纯化

大量培养 pET30a-Hexon 重组菌, 收集蛋白样品, 参照 Ni<sup>2+</sup>-NTA 组氨酸蛋白纯化柱说明书对蛋白进行纯化, 表明成功纯化 Hexon 重组蛋白(图 8)。

## 讨 论

HAdV 在自然界分布非常广泛, 传播迅速, 通常伴随着其它病毒或细菌混合感染, 且对婴幼儿及免疫功能低下人群极易感染<sup>[18]</sup>。HAdV 血清型较多, 迄今为止至少有 100 多种不同的血清型。近年来变异重组

血清型急剧增多, 且病毒效力较原始毒株更强<sup>[19]</sup>。

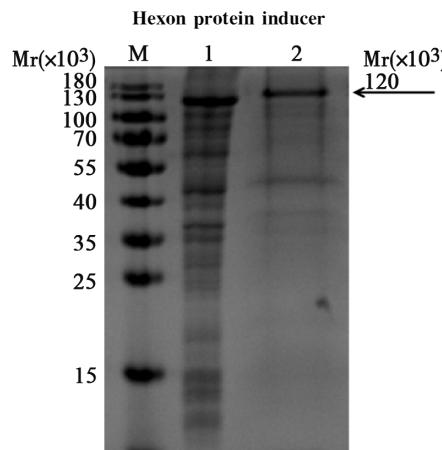


M 蛋白 Marker 1 30 °C 诱导 pET30a-Hexon 重组菌 2 34 °C 诱导 pET30a-Hexon 重组菌 3 37 °C 诱导 pET30a-Hexon 重组菌

图 7 HAdV-7 Hexon 蛋白诱导剂温度分析结果

M Protein Marker 1 Induction of pET30a-Hexon recombinant bacteria at 30 °C 2 Induction of pET30a-Hexon recombinant bacteria at 34 °C 3 Induction of pET30a-Hexon recombinant bacteria at 37 °C

Fig. 7 Results of temperature analysis of HAdV-7



M 蛋白 Marker 1 pET30a-Hexon 重组菌蛋白纯化前 2 pET30a-Hexon 重组菌蛋白纯化后

图 8 HAdV-7 Hexon 蛋白纯化分析结果

M Protein Marker 1 pET30a-Hexon recombinant bacterial protein before purification 2 pET30a-Hexon recombinant bacterial protein after purification

Fig. 8 Results of HAdV-7 Hexon protein purification analysis

其中, HAdV-7 属于腺病毒 B 组, 是造成婴幼儿呼吸道感染最主要的血清型, 且病死率约 12%<sup>[20]</sup>。目前为止, 市面上仍无可以对腺病毒感染进行有效预防治疗的抗病毒药物。关于 HAdV 疫苗, 1971 年曾生产过 HAdV-7 型口服的减毒活疫苗, 后来由于经济原因, 此疫苗的制造商停止了对该疫苗的生产<sup>[21-22]</sup>。

HAdV-7 的 Hexon 基因序列包括三个保守区 (conserved region, CVR) 和七个高变区 (hypervariable region, HVR)。三个保守区的序列较为稳定, 可作为基因片段扩增和引物设计的最佳区域。而高变区存在特异性的抗原表位, 能与宿主细胞产生抗原抗体特异性结合, 适合作为 HAdV-7 新型疫苗研

发的首选区域,是腺病毒相关抗体制备的关键基因,但国内外关于 Hexon 的研究甚少。因此,本文围绕 HAdV-7 的 Hexon 基因展开研究。

本研究克隆了 HAdV-7 的 Hexon 基因,其大小为 2 805 bp,构建重组质粒 pET30a-Hexon 转入大肠埃希菌感受态细胞进行表达,结果显示以包涵体的形式表达出约 120 ku 的重组蛋白,并且在 IPTG 浓度为 1 mmol/L、34 °C 诱导 8 h 的条件下重组蛋白表达量最高。利用 Ni<sup>2+</sup>-NTA 组氨酸标签蛋白纯化柱对原核表达系统表达的 HAdV-7 Hexon 蛋白进行纯化,成功纯化出 HAdV-7 Hexon 蛋白。为后续研发 HAdV-7 单克隆及多克隆抗体的制备、新型疫苗研发及血清学检测方法等奠定基础。

#### 【参考文献】

- [1] 高文娟,金玉,段招军.人腺病毒的研究进展[J].病毒学报,2014,30(2):193-200.
- [2] 任晓,曹玉贵,高丽华,等.97例成人7型腺病毒肺炎的临床分析[J].实用医药杂志,2019,36(9):808-810.
- [3] 周静.7型腺病毒对人不同细胞系感染的敏感性及病毒血症发生机制探究[D].广州医科大学,2022.
- [4] HungKH,Lin LH. Adenovirus pneumonia complicated with acute respiratory distress syndrome: a case report [J]. Medicine (Baltimore),2015,94(20):e776.
- [5] Ann T,Carr MJ,Dunford L, et al. First report of sudden death due to myocarditis caused by adenovirus serotype 3[J]. J Clin Microbiol,2010,48(2):642-645.
- [6] HuangYC, Huang SL, Chen SP, et al. Adenovirus infection associated with central nervous system dysfunction in children [J]. J Clin Virol,2013,57(4):300-304.
- [7] RyuJS, Cho JH, Han HS, et al. Acute respiratory distress syndrome induced by adenovirus in an otherwise healthy woman [J]. Yonsei Med J,2003,44(4):732-735.
- [8] DuddingBA, Top FH-Jr, Scott RM, et al. An analysis of hospitalizations for acute respiratory disease in recruits immunized with adenovirus type 4 and type 7 vaccines[J]. Am J Epidemiol,1972,95(2):140-147.
- [9] Yuki M, Hideaki S, Atsuko K, et al. Novel human adenovirus
- (上接 1003 页)
- [11] MolnarOR, Vegh A, Somkuti J, et al. Characterization of a G-quadruplex from hepatitis B virus and its stabilization by binding TMPyP4, BRACO19 and PhenDC3[J]. Sci Rep,2021,11(1):23243.
- [12] ZhaoHJ, Han QJ, Wang G, et al. Poly I:C-based rHBVvac therapeutic vaccine eliminates HBV via generation of HBV-specific CD8(+) effector memory T cells[J]. Gut,2019,68(11):2032-2043.
- [13] JamroskovicJ, Obi I, Movahedi A, et al. Identification of putative G-quadruplex DNA structures in *S. pombe* genome by quantitative PCR stop assay[J]. DNA Repair (Amst),2019(82):102678.
- [14] BurgerAM, Dai F, Schultes CM, et al. The G-quadruplex-interactive molecule BRACO-19 inhibits tumor growth, consistent with telomere targeting and interference with telomerase function[J]. Cancer Res,2005,65(4):1489-1496.
- [15] ArtusiS, Nadai M, Perrone R, et al. The Herpes Simplex Virus-1 genome contains multiple clusters of repeated G-quadruplex: strain, bangladesh[J]. EID,2012,18(5):846-848.
- [10] Jones MS, Harrach B, Ganac RD, et al. New adenovirus species found in a patient presenting with gastroenteritis [J]. Virol,2007,81(11):5978-5984.
- [11] LiuEB, Ferreyra L, Fischer SL, et al. Genetic analysis of a novel human adenovirus with a serologically unique hexon and a recombinant fiber gene[J]. PLoS One,2011,6(9):e24491.
- [12] YangZ, Zhu Z, Tang LY, et al. Genomic analyses of recombinant adenovirus type 11a in China[J]. Clin Microbiol,2009,47(10):3082-3090.
- [13] Robinson CM, Singh G, Henquell C, et al. Computational analysis and identification of an emergent human adenovirus pathogen implicated in a respiratory fatality [J]. Virology,2011,409(2):141-147.
- [14] Walsh MP, Seto J, Liu EB, et al. Computational analysis of two species C human adenoviruses provides evidence of a novel virus [J]. Clin Microbiol,2011,49(10):3482-3490.
- [15] Cai R, Mao NY, Dai JJ, et al. Genetic variability of human adenovirus type 7 circulating in mainland China[J]. PLoS ONE,2020,15(4):e0232092.
- [16] 杨中英,魏建华,任洛,等. HAdV-7 感染诱导肺泡上皮细胞铁死亡[J]. 陆军军医大学学报,2022,44(21):2146-2156.
- [17] Zhao SH, Wan CS, Ke CW, et al. Re-emergent human Adenovirus genome type 7d caused an acute respiratory disease outbreak in Southern China after a twenty-one year absence[J]. Sci Rep,2014,4:7365.
- [18] 王亮,秦剑秋,尹刘江,等.人腺病毒 7 型流行病学及检测方法研究进展[J].中国卫生检验杂志,2022,32(19):2427-2430.
- [19] 高文娟.人腺病毒南京、湖南、兰州地方株型别鉴定及 Hexon 全基因序列进化分析[D].兰州大学,2013.
- [20] BoseS, Malur A, Banerjee AK. Polarity of human parainfluenza virus type 3 infection in polarized human lung epithelial A549 cells: role of microfilament and microtubule[J]. J Virol,2001,75(4):1984-1989.
- [21] Top FH Jr, Dudding BA, Russell PK, et al. Control of respiratory disease in recruits with types 4 and 7 adenovirus vaccines[J]. Am J Epidemiol,1971,94(2):142-146.
- [22] MahonG, BlairGE, WoodGM, et al. Is persistent adenovirus 12 infection involved in coeliac disease? A search for viral DNA using the polymerase chain reaction[J]. Gut,1991,32(10):1114-1116.

【收稿日期】 2024-03-22 【修回日期】 2024-06-05

Implications for the antiviral activity of a G-quadruplex ligand [J]. Antiviral Res,2015,118(6):123-131.

- [16] ButovskayaE, Solda P, Scalabrin M, et al. HIV-1 Nucleocapsid Protein Unfolds Stable RNA G-Quadruplexes in the Viral Genome and Is Inhibited by G-Quadruplex Ligands[J]. ACS Infect Dis,2019,5(12):2127-2135.
- [17] HarpsterC, Boyle E, Musier-Forsyth K, et al. HIV-1 genomic RNA U3 region forms a stable quadruplex-hairpin structure[J]. Biophys Chem,2021(272):106567.
- [18] KumarS, Choudhary D, Patra A, et al. Analysis of G-quadruplexes upstream of herpesvirus miRNAs: evidence of G-quadruplex mediated regulation of KSHV miR-K12-1-9, 11 cluster and HCMV miR-US33[J]. BMC Mol Cell Biol,2020,21(1):67.
- [19] QinG, Zhao C, Liu Y, et al. RNA G-quadruplex formed in SARS-CoV-2 used for COVID-19 treatment in animal models[J]. Cell Discov,2022,8(1):86.

【收稿日期】 2024-03-26 【修回日期】 2024-06-15