

Capacity of Thrombosis Targeting Protein (RGD)₃ - tTF Specific Binding to Tumor Vasculature Markers Integrin $\alpha_3\beta_3$

靶向血栓蛋白 (RGD)₃ - tTF 与肿瘤血管标志物 $\alpha_3\beta_3$ 特异性结合能力的研究

HUANG Zheng-jie¹, LUO Qi^{1*}, YAN Jiang-hua², WANG Sheng-yu²
(1. Fujian Medical University Teaching Hospital Zhongshan Hospital Affiliated to Xiamen University, Xiamen 361004, Fujian;
2. Cancer Research Center of Medical School, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China)

黄正接¹/罗 琪^{1*}/颜江华²/王生育²
(1. 福建医科大学教学医院, 厦门大学附属中山医院, 福建 厦门, 361004; 2. 厦门大学医学院抗癌研究中心, 福建 厦门 361005)

【摘要】背景与目的: 研究靶向血栓蛋白 (RGD)₃ - tTF 融合蛋白结合肿瘤血管标志物整合素 $\alpha_3\beta_3$ 的能力, 旨在探讨融合蛋白的 RGD 多肽数量和化学结构与其结合整合素 $\alpha_3\beta_3$ 能力的关系及其意义。材料与方法: 用 3 个串联的 RGD 多肽与截短组织因子 (truncated tissue factor, tTF) 合成融合基因 (RGD)₃ - tTF, 表达于大肠杆菌 (*E. coli*) BL21 (DE3), 用镍柱纯化融合蛋白。通过凝血实验检测融合蛋白 tTF 组分的活性, 运用间接酶联免疫吸附试验 (ELISA) 分析其特异性结合整合素 $\alpha_3\beta_3$ 的能力, 并与 RGD - tTF 融合蛋白的活性进行比较。结果: (RGD)₃ - tTF 与 RGD - tTF 融合蛋白凝血活性相似 ($F=0.019, P>0.05$), 但 (RGD)₃ - tTF 融合蛋白特异性结合整合素 $\alpha_3\beta_3$ 的能力明显升高 ($F=140.17, P<0.01$)。当融合蛋白浓度为 0.24 $\mu\text{mol/L}$ 时, (RGD)₃ - tTF 融合蛋白的 $OD_{405\text{nm}}$ 值是 RGD - tTF 融合蛋白的 1.32 倍 (1.25/0.95)。结论: (RGD)₃ - tTF 融合蛋白带有两个二硫键和 3 个 RGD 多肽, 保留了组织因子凝血活性的同时, 提高了与整合素 $\alpha_3\beta_3$ 特异性结合的能力, 为开展选择性肿瘤血管血栓靶向治疗的动物实验奠定了基础。

【关键词】 RGD; tTF; 靶向血栓蛋白; 整合素 $\alpha_3\beta_3$

中图分类号: R73 - 3 文献标识码: A 文章编号: 1004 - 616X(2009)06 - 0413 - 05

【ABSTRACT】 BACKGROUND AND AIM: To study the ability of (RGD)₃-tTF thrombosis targeted protein binding to tumor vascular markers such as integrin $\alpha_3\beta_3$, and to investigate the relationship between the targeting ability to integrin $\alpha_3\beta_3$ and the chemical structure of RGD polypeptide of the fusion protein. MATERIALS AND METHODS: The (RGD)₃-tTF fusion gene was synthesized by the truncated tissue factor (tTF) and three RGD polypeptides in series and expressed in Escherichia coli (*E. coli*) BL21 (DE3). The fusion protein was then purified by Nickel affinity chromatography column. The activity of the tTF fusion protein was evaluated by clotting assay. The binding ability to intergrin $\alpha_3\beta_3$ specially was analyzed by indirect enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), and compared with the activity of RGD-tTF fusion protein. RESULTS: The coagulation activity of (RGD)₃-tTF and RGD-tTF purified fusion protein was alike ($F=0.019, P>0.05$). However, the ability of the (RGD)₃-tTF fusion protein binding to intergrin $\alpha_3\beta_3$ specifically was elevated significantly ($F=140.17, P<0.01$). When the concentration was 0.24 $\mu\text{mol/L}$, the $OD_{405\text{nm}}$ of the (RGD)₃-tTF fusion protein was 1.3 times more than that of RGD-tTF fusion protein (1.25/0.95). CONCLUSION: Because the (RGD)₃-tTF fusion protein has two disulfides and three RGD polypeptides, the coagulation activity of tissue factor was retained and the ability binding to integrin $\alpha_3\beta_3$ was increased significantly. It may provide a foundation for the further study of thrombosis-targeted therapy in animal tumor models.

【KEY WORDS】 RGD; tTF; thrombosis-targeting protein; integrins $\alpha_3\beta_3$

收稿日期: 2009 - 07 - 03 ; 修订日期: 2009 - 09 - 13
基金项目: 厦门市卫生局科研项目 (wsk0509)
作者简介: 黄正接 (1974 -), 男, 福建省诏安人, 在职硕士生, 研究方向: 胃肠道肿瘤。

*Correspondence to: LUO Qi, Tel: 0592 - 8891861, E-mail: luoqi@medmail.com.cn

CARCINO GENESIS, TERATO GENESIS & MUTA GENESIS
0 4 1 3

尽管肿瘤基础研究取得了重要进展,然而在全球范围内,恶性肿瘤仍然极大地危害人类生命健康,人类面临着防治恶性肿瘤的新挑战,许多国家对肿瘤研究都予以极大的关注^[1]。1997年Huang等^[2]首先以抗肿瘤血管标志物抗体为载体连接到组织因子(tF)胞外区的截短组织因子(truncated tissue factor, tTF),制备载体-截短组织因子融合蛋白,将抗体的特异性传递和tTF潜在的凝血功能相结合,靶向肿瘤血管而选择性诱发肿瘤组织血管栓塞,导致肿瘤衰退,建立了以tTF作为效应因子的肿瘤血管靶向治疗方法。这种以阻断肿瘤血管血流供应为目的的肿瘤分子靶向治疗已经引起相当关注,但在国内少见相关的报道。 ν_3 是整合素家族成员之一,在肿瘤血管内皮细胞高度表达,可以作为肿瘤血管内皮细胞膜标志物^[3]。RGDSP(缩写RGD)即精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arg-Gly-Asp),是具有生物活性的短肽序列之一,含RGD序列的小分子多肽CDCRQDCFC(RGD-4C)是用噬菌体表面展示肽库技术成功筛选出对 ν_3 有亲和力的配体,其中RGD是结合整合素 ν_3 的部位^[3]。我们以3个串联的含RGD序列的RGD-4C作为tTF的载体,利用基因工程技术构建融合基因(RGD)₃-tTF,在大肠杆菌表达制备(RGD)₃-tTF融合蛋白,检测其与整合素 ν_3 特异性结合的能力,并与RGD-tTF融合蛋白的活性进行比较,旨在探讨tTF为效应因子的靶向血栓蛋白的RGD多肽数量和化学结构与其结合 ν_3 能力的关系和意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株和质粒 大肠杆菌(*E. coli*) BL21 (DE₃)由厦门大学医学院抗癌研究中心提供,质粒pET22 b (+)购自Novagen公司,tTF/pSK (+)质粒由美国南加州大学Epstein教授惠赠。

1.1.2 工具酶及试剂 工具酶购自NEB公司,脱氧核糖核酸(DNA)纯化试剂盒为OMEGA公司产品,DNA序列分析由上海博亚公司完成。鼠抗6个组氨酸标签的单克隆抗体(6×His mAb)、辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗鼠免疫球蛋白G(IgG)购自上海生工公司,整合素 ν_3 购自Sigma公司。

1.1.3 引物及RGD-tTF融合蛋白 引物由上海生工合成。根据tTF cDNA序列设计扩增tTF的引物,P₁(上游引物):TCTGGCACTACAAATACTGTGGC和P₂(下游引物):TTCCTGAAATCCCTTCTCC。根据文献^[4]设计含有3个RGD-4C(CDCRQDCFCGGGS)的寡核苷酸P₃:CATACCATGGCC(TCCGATTGTCGCGGAGATTCTTC

TCCGGTGGAGCCGGGTC)₃TCTGGCACTACAAATAC(其中划直线部分为含RGD-4C序列,波浪线部分为tTF 5'端序列)。引物P₄:CATACCATGGCCTCCGATTGTC和引物P₅:CTACCTCGAGTTCCTGAAATCCCTTCTCC。RGD-tTF融合蛋白由厦门大学医学院抗癌研究中心提供。

1.2 方法

1.2.1 融合基因(RGD)₃-tTF的构建 以tTF/pSK (+)为模板,P₁和P₂为引物,常规PCR扩增tTF基因。在PCR反应体系中加入tTF基因产物和含(RGD-4C)₃的引物P₃,退火融合得到(RGD)₃-tTF模板;再加入引物P₄、P₅扩增(RGD)₃-tTF融合基因并在5'和3'端分别引入Nco和Xho内切酶位点。1%琼脂糖凝胶鉴定、DNA胶纯化试剂盒回收纯化目的片段。

1.2.2 重组质粒的构建及转化 将纯化的PCR产物及载体pET22 b (+)分别进行双酶切,在T4 DNA连接酶催化下连接,连接产物转化*E. coli* BL21(DE₃),经氨苄青霉素抗性初筛、PCR筛选,阳性克隆送上海博亚公司测序。

1.2.3 (RGD)₃-tTF融合蛋白的表达及纯化 挑取含正确重组质粒(RGD)₃/tTF/pET22 b (+)的单菌落37℃培养过夜,扩大培养后,通过不同的诱导时间和异丙基-D-硫代半乳糖苷(IPTG)浓度优化其表达条件。以最佳培养条件扩大培养。镍柱纯化目的蛋白,纯化蛋白用12%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分析,依次加鼠抗6×His mAb、HRP标记的羊抗鼠IgG孵育。纯化蛋白用0.01 mol/L磷酸缓冲液(PBS)透析复性。

1.2.4 凝血实验 参照Haubitz等^[5]凝血实验方法,用3.8%的柠檬酸钠处理新鲜小鼠血液,留血浆。凝血板每孔加血浆30 μl,分别加(0.75、1.5、3.6 μmol/L)的(RGD)₃-tTF、RGD-tTF融合蛋白和终浓度为12.5 mmol/L的氯化钙(CaCl₂),并设(RGD)₃-tTF、RGD-tTF融合蛋白和CaCl₂的对照组,室温下记录从加入CaCl₂至血浆开始出现不流动的时间。

1.2.5 特异性结合整合素 ν_3 实验 参照Kessler等^[6]的研究方法用间接酶联免疫吸附试验(ELISA)分析(RGD)₃-tTF融合蛋白特异性结合 ν_3 的能力。96孔板包被 ν_3 ,4℃过夜,1%小牛血清蛋白(BSA)封闭,分别加入倍比稀释的(RGD)₃-tTF融合蛋白(0.015~0.48 μmol/L),以相应浓度的RGD-tTF融合蛋白、tTF-His作对照,于4℃过夜。依次加入鼠抗6×His mAb、HRP标记的羊抗鼠IgG孵育,四甲基联苯胺(TMB)显色10 min后终止反应,测定OD_{405nm}值。

1.3 统计学方法

数据用 SPSS11.5 统计软件包进行处理, 组间比较采用重复测量设计资料的方差分析, 以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

2 结 果

2.1 (RGD)₃-tTF 的 PCR 组装

以质粒 tTF/ pSK(+) 为模板 PCR 扩增获得大小为 657 bp 的 tTF, 再与含 (RGD-4C)₃ 的引物 P₃ 退火融合, 得到 (RGD)₃-tTF 模板, 经 PCR 扩增获得 (RGD)₃-tTF 产物, 1% 琼脂糖凝胶电泳分析, 约在 780 bp 处见单一特异性亮带 (图 1), 其大小与理论计算值 (784 bp) 相一致, 且比 RGD-tTF 多约 50 bp。

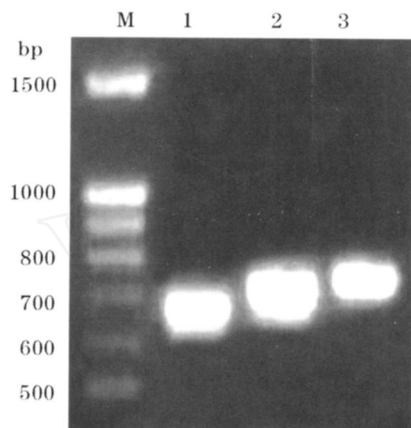


图 1 (RGD)₃-tTF PCR 产物琼脂糖凝胶电泳分析. M: DNA 标记; 1: tTF PCR 产物; 2: RGD-tTF PCR 产物; 3: (RGD)₃-tTF PCR 产物
Figure 1 Analysis of PCR product of (RGD)₃-tTF by agarose gel electrophoresis. M: DNA marker; 1: PCR product of tTF; 2: PCR product of RGD-tTF; 3: PCR product of (RGD)₃-tTF.

2.2 重组质粒的鉴定

经氨苄青霉素抗性初筛, PCR 筛选阳性克隆送上海博亚公司测序, 经核苷酸序列和蛋白编码分析获得了正确重组质粒克隆。

2.3 融合基因 (RGD)₃-tTF 在大肠杆菌 (E. coli) BL21(DE₃) 中的表达

含有融合基因 (RGD)₃-tTF 的 DE₃ 重组子经系列浓度异丙基硫代-D-半乳糖苷 (IPTG) 诱导表达, 发现 IPTG 终浓度达 0.1 mmol/L 时, 目的蛋白表达量已达最大。以 0.2 mmol/L IPTG 探测, 发现于 37 °C 诱导 6 h 为最佳诱导时间。目的蛋白主要以包涵体形式表达, 经镍柱纯化, 12% SDS-PAGE, 见单一蛋白纯化条带约位于 38 kD (38 × 10³ Da) 处 (图 2), 用鼠抗 6 × His mAb 证实该纯化蛋白带为 (RGD)₃-tTF 融合蛋白。

2.4 凝血实验结果

柠檬酸钠抗凝血浆在单独加 12.5 mmol/L CaCl₂

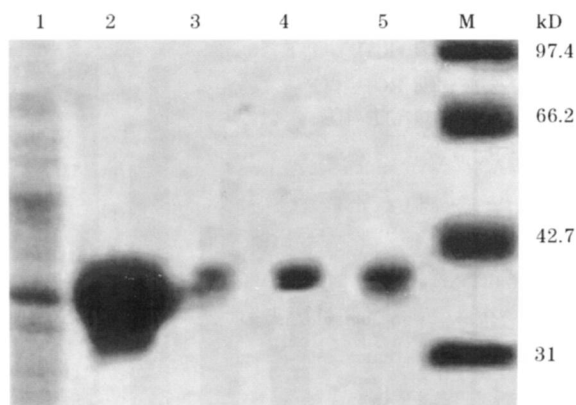


图 2 重组 (RGD)₃-tTF 的镍柱纯化产物 SDS-PAGE 分析. 1: 可溶性总蛋白; 2: 非可溶性总蛋白; 3, 4, 5: 用洗脱缓冲液从层析柱上洗脱下来的样品; M: 蛋白质标记
Figure 2 Analysis of the product of purification through Nickel-affinity chromatography column by SDS-PAGE. 1: Total soluble protein; 2: Total insoluble protein; 3, 4, 5: Sample washed from the column with Elute buffer; M: Protein marker.

或 6 μmol/L tTF 融合蛋白时, 抗凝血浆 30 min 内不凝; 在 Ca²⁺ 存在时, tTF 融合蛋白能有效促进血浆凝固 (表 1)。随着 (RGD)₃-tTF 融合蛋白浓度的增加, 凝血

表 1 tTF 融合蛋白的凝血作用 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Clotting of tTF fusion proteins ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

tTF fusion protein (μmol/L)	CaCl ₂ (mmol/L)	Time of blood clotting (min)	
		(RGD) ₃ -tTF ^a	RGD-tTF
0	0	> 30	> 30
0	12.5	> 30 ^a	> 30 ^b
0.75	12.5	> 30	> 30
1.5	12.5	14.56 ± 0.72 [#]	14.97 ± 0.57
3	12.5	12.78 ± 0.70 [#]	13.09 ± 0.47
6	12.5	9.96 ± 0.56 [#]	10.04 ± 0.39
6	0	> 30	> 30

Repeated measures analysis of variance: compared with the RGD-tTF group, ^a $P > 0.05$ ($F = 0.019$); compared with the control group (a): [#] $P < 0.01$; compared with the control group (b): $P < 0.01$.

时间相应缩短 ($P < 0.01$), 其凝血活性与 RGD-tTF 相似 ($F = 0.019, P > 0.05$)。

2.5 特异性结合整合素 $\alpha_v\beta_3$ 实验结果

间接 ELISA 检测 (RGD)₃-tTF 融合蛋白与 $\alpha_v\beta_3$ 相结合的特异性。实验结果 (图 3) 表明 (RGD)₃-tTF 和 RGD-tTF 融合蛋白均可与 $\alpha_v\beta_3$ 特异性结合, 其结合程度与剂量相关, 并呈饱和现象, 除 0.015 μmol/L 浓度组外相同浓度的 (RGD)₃-tTF 融合蛋白与 $\alpha_v\beta_3$ 的结合能力强于 RGD-tTF ($F = 140.17, P < 0.01$)。当 tTF 融合蛋白浓度为 0.24 μmol/L 时, (RGD)₃-tTF 和 RGD-tTF 融合蛋白的 OD_{405nm} 分别为 1.25 和 0.95。而单纯的 tTF-His 与 $\alpha_v\beta_3$ 不反应。

3 讨 论

恶性肿瘤的发生、发展离不开血管, 血液供应为肿瘤



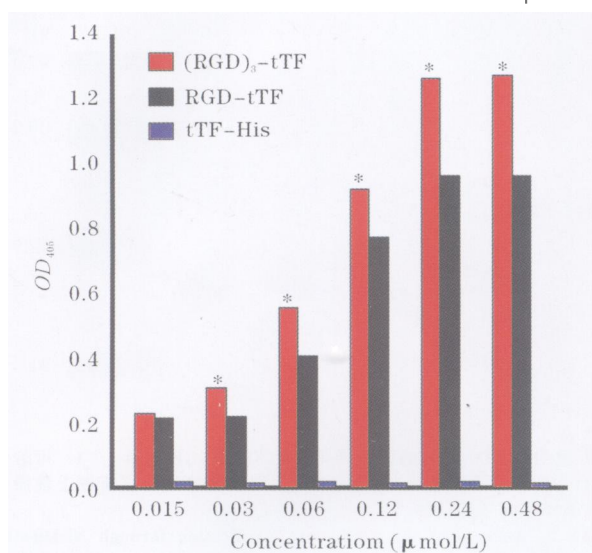


图 3 (RGD)₃-tTF 与 v₃ 特异性结合分析. 与 RGD-tTF 组比较, F = 140.17, *P < 0.01.

Figure 3 The analysis of (RGD)₃-tTF specific binding to v₃. Compared with the RGD-tTF group, F = 140.17, *P < 0.01

细胞的生长提供充足的营养物质并带走其代谢产物^[7]。组织因子 (TF) 是一种跨膜糖蛋白,是凝血级联反应的始发因子。研究证明^[8-9] 仅含有 TF 胞外区的截短组织因子 (tTF) 保留了结合并活化凝血因子 (F_{II}) 的活性,但其激活凝血因子 (F_{II}) 的活性仅为完整的跨膜 TF 的 10⁻⁵。因此, tTF 与凝血因子 的结合并不能有效激活凝血因子,但当载体-tTF 融合蛋白的载体结合于细胞膜后, tTF 激活凝血因子 的功能将完全恢复,从而诱导肿瘤组织血管形成血栓,导致肿瘤缺血坏死^[2,10]。

载体-tTF 融合蛋白诱发的特异性肿瘤血管栓塞的效果取决于载体的特异性及其抗原或受体的表达和分布情况。目前研究较多的是利用抗肿瘤血管标志物抗体作为特异性载体,如已见报道的抗血管内皮细胞粘附因子 1 (VCAM-1) 抗体^[11] 和抗血管内皮生长因子 (VEGF) 抗体^[12]。这种方法存在一些弊端^[6],如由于抗体的分子相对较大,容易造成空间位阻而影响 tTF 与凝血因子 和凝血因子 的结合能力,进而降低了诱发肿瘤血管栓塞的效率。另外,抗体-tTF 融合蛋白从理论上讲可被肝、脾等网状内皮系统吸附,存在引起这些器官血栓形成的潜在风险。

v₃ 是整合素家族成员之一,在肿瘤血管内皮细胞高度表达,而在正常组织的血管含量极少,可以作为肿瘤血管内皮细胞膜标志物^[3]。RGD-4C 小肽是一种能与受体 v₃ 特异性结合的配体,与抗体比较,其分子较小,已作为化学药物的载体成功用于肿瘤血管的靶向治疗^[13]。但是,相对抗原-抗体结合而言,受体-配体的亲和力较低。Hu 等^[14] 用单一线性的 RGD 配体作为效应因子 tTF 的特异性载体,制备 RGD-tTF 融合蛋白在荷瘤小鼠上进

行体内实验,结果发现仅能选择性诱导肿瘤组织的小血管形成血栓,抗肿瘤效果并不理想。

研究表明,重复的 RGD-4C 序列相对于抗体和其它多肽而言有其独特优点^[15]:基于 tTF-F 复合物的晶体结构,以 3 个串联的 RGD-4C 序列为 tTF 载体表达的 (RGD)₃-tTF 融合蛋白可以跟完整组织因子一样结合于磷脂膜表面,不会产生空间位阻影响 tTF 与凝血因子 和凝血因子 的结合;带有两个二硫键的双重环化的 RGD-4C 对 v₃ 的亲合力比单个二硫键的 RGD 高 20% ~ 40%,比线性的 RGD 高 200%;重复的 RGD 序列相对于单一的 RGD 序列对整合素具有更高的亲合力。因此,本实验研究利用基因工程技术,在 tTF 的 5 端分别引入 3 个重复的 RGD-4C 序列,构建了融合基因 (RGD)₃-tTF 后进行表达、纯化,成功制备了 (RGD)₃-tTF 融合蛋白并分析其活性,凝血实验结果表明 (RGD)₃-tTF 融合蛋白保持了组分 tTF 的凝血功能,其凝血活性与 RGD-tTF 融合蛋白相仿 (P > 0.05),说明增加 RGD 配体数量不会影响融合蛋白的凝血功能。但是,(RGD)₃-tTF 融合蛋白与 v₃ 的最大结合能力是 RGD-tTF 的 1.32 倍 (1.25/0.95),(RGD)₃-tTF 融合蛋白特异性结合 v₃ 的能力显著提高 (P < 0.01)。尽管受体 v₃ 与配体 RGD 的亲合力较低,但引入 3 个重复的 RGD-4C 序列的 (RGD)₃-tTF 融合蛋白不仅带有两个二硫键,而且具有 3 个配体 RGD,增加了配体数量,从而提高了与受体 v₃ 的亲合力,能改善选择性诱发肿瘤血管栓塞的效率。本实验研究结果同时也说明:Hu 等^[14] 制备的 RGD-tTF 融合蛋白抗肿瘤效果不理想,其原因可能在于仅有单一 RGD 配体的 RGD-tTF 融合蛋白与受体 v₃ 的亲合力较低。

本研究表达成功的 (RGD)₃-tTF 融合蛋白以 3 个重复的 RGD-4C 序列作为 tTF 的载体,克服了空间位阻的弊端,提高了结合 v₃ 的能力,这一结果对 RGD 在 tTF 作为效应因子的肿瘤血管靶向治疗中的应用有重要意义,可望制备一种新的肿瘤血管靶向治疗药物,使之高效地诱发肿瘤组织血管形成血栓,阻断肿瘤血管血流供应,取得良好的抗肿瘤作用。

参考文献:

- [1] 程书钧. 肿瘤防治研究的新挑战 [J]. 癌变·畸变·突变, 2004, 16(4): 193-195.
- [2] Huang X, Mblema G, King S, et al. Tumor infarction in mice by antibody-directed targeting of tissue factor to tumor vasculature [J]. Science, 1997, 275 (5299): 547-550.
- [3] Wang H, Chen K, Cai W, et al. Integrin-targeted imaging and therapy with RGD4C-TNF fusion protein [J]. Mol Cancer Ther,

- 2008,7(5):1044-1053.
- [4] Pasqualini R, Ruoslahti E. Organ targeting in vivo using phage display peptide libraries[J]. Nature, 1996, 380(6572): 364-366.
- [5] Haubitz M, Brunkhorst R. Influence of a novel rapamycin analogon SDZ RAD on endothelial tissue factor and adhesion molecule expression[J]. Transplant Proc, 2002,34(4):1124-1126.
- [6] Kessler T, Bieker R, Padro T, et al. Inhibition of tumor growth by RGD peptide - directed delivery of truncated tissue factor to the tumor vasculature[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(17):6317-6324.
- [7] Bieker R, Padro T, Kramer J, et al. Overexpression of basic fibroblast growth factor and autocrine stimulation in acute myeloid leukemia[J]. Cancer Res, 2003,63(21):7241-7246.
- [8] Davie EW, Fujikawa K, Kisiel W. The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation[J]. Biochemistry, 1991, 30(43):10363-10370.
- [9] Ruf W, Rehemtulla A, Morrissey JH, et al. Phospholipid - independent and - dependent interactions required for tissue factor receptor and cofactor function[J]. J Biol Chem, 1991, 266(4): 2158-2166.
- [10] Huang X, Ding WQ, Vaught JL, et al. A soluble tissue factor - annexin V chimeric protein has both procoagulant and anticoagulant properties[J]. Blood, 2006,107(3):980-986.
- [11] Dienst A, Grunow A, Unruh M, et al. Specific occlusion of murine and human tumor vasculature by VCAM-1 - targeted recombinant fusion proteins [J]. J Natl Cancer Inst, 2005,97(10):733-747.
- [12] Huang FY, Li YN, Wang H, et al. A fusion protein containing murine vascular endothelial growth factor and tissue factor induces thrombogenesis and suppression of tumor growth in a colon carcinoma model[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2008, 9(8):602-609.
- [13] Arap W, Pasqualini R, Ruoslahti E. Cancer treatment by targeted drug delivery to tumor vasculature in a mouse model [J]. Science, 1998, 279(5349):377-380.
- [14] Hu P, Yan J, Shanfi J, et al. Comparison of three different targeted tissue factor fusion proteins for inducing tumor vessel thrombosis[J]. Cancer Research, 2003, 63(16):5046-5053.
- [15] Koivunen E, Wang B, Ruoslahti E. Phage libraries displaying cyclic peptides with different ring sizes: ligand specificities of the RGD - directed integrins[J]. Biotechnology, 1995, 13(3): 265-270.

《癌变·畸变·突变》杂志 2010 年征订启事

《癌变·畸变·突变》是中国科学技术协会主管、中国环境诱变剂学会(国家一级学会)主办、汕头大学医学院承办、科学出版社出版的学术期刊,1989年创刊,国内外公开发行。本刊宗旨:介绍环境因子致癌、致畸变和致突变领域的新理论、新技术、新方法以及国内外研究动态,开展学术交流,促进本学科的繁荣与发展。本刊为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、《中国学术期刊综合评价数据库》、《中国科学引文数据库》统计源期刊、《中文科技资料目录——医药卫生》收录源期刊、《中国科技期刊引证报告》及《中国学术期刊文摘》收录期刊,被《中国期刊网》和《中国期刊全文数据库》、《中国学术期刊(光盘版)》、《中文科技期刊数据库》、《中国生物医学文献数据库》、《中文生物医学期刊全文数据库》、《中国核心期刊(遴选)数据库》全文收录。

本刊主要刊载内容: 药物、农药、食品添加剂、化妆品、营养保健品、其他化学物质、放射线,以及水体、空气、土壤中存在的环境污染与肿瘤发生、胎儿发育畸形、遗传基因突变的关系; 癌变机制; 抗突变物与抗癌物的开发利用; 环境风险因子评价; 相关医学基础与临床研究等。本刊设有“专家述评”、“论著”、“肿瘤防治”、“研究简报”、“相关医学基础与临床”、“技术与方法”及“综述”等栏目。

读者对象:从事遗传学、毒理学、药理学、肿瘤学研究及环境保护、卫生防疫、计划生育、肿瘤防治、药品与生物制品研制等工作的科技人员和相关领域的大专院校师生。

著名科学家的专题述评、内容丰富的研究论文、高质量的装帧与印刷将使本刊成为您从事科学研究的得力助手与展示您研究成果的理想园地。

本刊为双月刊,大16开本,内文80页,封面纸张采用200克进口铜版纸(单面覆膜),内页采用105克进口铜版纸,随文排彩色图版。国内刊号:CN 44-1063/R,邮发代号:80-285,北京市报刊发行局发行。国际刊号:ISSN 1004-616X,国外发行代号:6364(BM),中国国际图书贸易总公司发行。国内定价每期10.00元,全年订价:60.00元。

2010年征订工作即将开始,欢迎新老客户订阅。如漏订者可直接向编辑部订阅(免邮资费),也可在当地邮局补订。

联系方式:广东省汕头市新陵路22号(汕头大学医学院内),《癌变·畸变·突变》编辑部收。

邮政编码:515041 电话及传真:0754-88900267。

E-mail: cemsctm@stu.edu.cn Web: www.egh.net.cn

