

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 200426070

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

蛋白结构模拟预测 H5 型禽流感病毒保守中
和表位及其抗病毒多肽的初步设计

The Prediction of Conservative Neutral Epitope of H5 Avian
Influenza Virus and the Preliminary Design of Anti-virus
Polypeptide using Protein Structure Modeling.

颜渊清

指导教师姓名: 张 军 教授

专 业 名 称: 细 胞 生 物 学

论文提交日期: 2007 年 06 月 29 日

论文答辩时间: 2007 年 08 月 02 日

学位授予日期: 2007 年 月 日

答辩委员会主席: 曾定 教授

评 阅 人: _____

2007 年 07 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士论文摘要库

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版,有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅,有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索,有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1. 保密 (), 在年解密后适用本授权书。
2. 不保密 ()

(请在以上相应括号内打“√”)

作者签名: 日期: 年 月 日

导师签名: 日期: 年 月 日

目 录

摘 要.....	1
ABBREVIATION (缩略词)	5
前 言.....	6
1. 禽流感病毒概述.....	6
1.1. 禽流感病毒的形态特征及其化学组成.....	6
1.2. 禽流感病毒的基因组结构.....	7
1.3. 禽流感病毒蛋白特征.....	9
2. 禽流感的流行与危害.....	12
2.1. 禽流感的发现.....	12
2.2. 禽流感的传播.....	12
2.3. 禽流感的危害.....	13
3. 禽流感疫苗开发.....	15
3.1. 灭活疫苗.....	15
3.2. 减毒活疫苗.....	15
3.3. 亚单位疫苗.....	16
3.4. 重组活载体疫苗.....	16
3.5. 核酸疫苗.....	17
3.6. 通用疫苗.....	18
4. 抗原表位疫苗.....	18
4.1. 抗原表位疫苗概述.....	18
4.2. 抗原表位的鉴定与选择.....	19
4.3. 抗原表位的设计与优化.....	19
4.4. 抗原表位疫苗的应用.....	20
5. 蛋白质结构预测.....	21
5.1. 蛋白结构预测方法的迫切需要及其诞生.....	21
5.2. 理论计算方法在蛋白质空间结构建模中的应用.....	21
5.3. 基于蛋白质结构认识的结构预测.....	24
5.4. 蛋白结构预测在抗体模拟上的应用.....	26

6. 本论文的研究目的, 思路及意义.....	28
材料与方法.....	30
1. 材料.....	30
1. 1. 主要仪器.....	30
1. 2. 软件及其使用模块.....	30
1. 3. 基因序列及其蛋白晶体结构.....	30
2. 方法.....	31
2. 1. 抗体模拟.....	31
2. 2. 模型合理性验证.....	34
2. 3. 抗体和 HA 抗原的分子对接.....	35
2. 4. 复合物溶剂可及表面分析和表位确定.....	35
2. 5. 与 HA 抗原保守表位区域结合的抗体多肽.....	35
结果与分析.....	37
第一部分 抗体 Fab 片段结构模拟.....	37
1. 1. 结构模板的获得和一级结构分析.....	37
1. 2. Fab 片段的分子模建.....	39
第二部分 结构评测.....	41
2. 1. 能量分析.....	41
2. 2. SAS 值分析.....	43
2. 3. 氢键分析.....	43
2. 4. 二面角分析.....	44
2. 5. Profiles-3D 分析.....	45
第三部分 分子对接及其表位分析.....	47
3. 1. Fab8H5 和 HA 抗原的分子对接.....	47
3. 2. Fab8G9 和 HA 抗原的分子对接.....	50
3. 3. Fab10F7 和 HA 抗原的分子对接.....	54
3. 4. 共同表位分析.....	58
第四部分 抗 H5 禽流感病毒药物的初步探索.....	60
4. 1. 抗 H5 禽流感多肽药物设计的基础.....	60

4. 2. Fab8H5 中与 HA 中和表位区域结合的多肽	60
4. 3. Fab8G9 中与 HA 中和表位区域结合的多肽	61
4. 4. Fab10F7 中与 HA 中和表位区域结合的多肽	61
讨论	63
5. 1. 影响蛋白结构分子模建的因素	63
5. 2. 分子对接的分析	66
5. 3. 抗体对接在药物设计中的作用	67
5. 4. 小结	68
5. 5. 展望	68
参考文献	70
致谢	81
附录	82

摘 要

H5N1 禽流感病毒已经在亚洲, 欧洲和非洲广泛地传播, 不仅造成了巨大的经济损失, 而且这种病毒已经感染到人类, 导致人员的大量伤亡。随着病毒在禽类的连续性爆发, 通过基因重配或者基因突变, 这种病毒有可能在人与人之间传播。据预测, 如果 H5N1 病毒成为下一次全球性爆发的病毒株, 由于人没有或者几乎没有对这种病毒株的免疫性, 将会有上亿人死于这种病毒。WHO 呼吁全球各个国家都要有应对这种病毒的策略。最近本实验室鉴定出 3 株对多种来源的 H5N1 代表株均有良好中和活性的识别 H5 亚型血凝素 (HA) 的广谱单克隆抗体 8H5、8G9 和 10F7, 对于寻找克服禽流感高变性的广谱治疗性抗体、疫苗和药物具有重要价值。

本研究应用分子模拟技术, 将克隆得到的 3 株广谱单抗采用“典范结构”方法进行结构模建, 模型结构在 cvff 力场下进行能量最小化和分子动力学模拟的优化, 并通过能量、“拉曼强传图”检验、Profiles-3D 分析等理论验证, 获得较为合理的 3 株抗体 Fab 的三维空间结构。

将 3 株单抗 Fab 分子依次与已有晶体结构的 3 个 H5 亚型 HA 分子 (PDB 编号是 1j5m、2ibx 和 2fk0) 进行分子对接, 利用分子对接结果分析 H5 亚型禽流感的广谱中和表位和针对中和表位的药物设计的多肽参考物, 其中综合单个 Fab 分子与 3 个 HA 分子的对接结果用于寻找该单抗识别的 HA 抗原表位, 用于寻找与抗原良好契合的多肽结构。

综合分析分子对接的结果表明: (1) HA 蛋白的 Fab8H5 表位是由 9 个不连续氨基酸残基组成的: (以 1j5m 氨基酸编号计) Asp⁶⁸, Asn⁷², (Glu¹¹², Lys¹¹³, Ile¹¹⁴), Pro¹¹⁸, Ser¹²⁰, Tyr¹³⁷, Tyr²⁵²; (2) HA 蛋白的 10F7 表位也是由 9 个不连续的氨基酸残基所组成: Asn⁷², (Glu¹¹², Lys¹¹³, Ile¹¹⁴), (Ser¹²⁰, Ser¹²¹), Arg¹⁴⁵, Tyr¹⁶⁴, Tyr²⁵²; (3) HA 蛋白的 8G9 表位位于 Glu¹¹² 到 Ser¹²⁰ 之间的区域; (4) Fab8H5 上的 Tyr⁵⁰-Ser⁵¹-Ser⁵²-Asn⁵³-Leu⁵⁴-Ala⁵⁵-Pro⁵⁶ 多肽结构, Fab8G9 上的

Gly⁹⁵-Ieu⁹⁶-Ala⁹⁷-Thr⁹⁸-Leu⁹⁹-Met¹⁰⁰-Val^{100a}-Leu^{100b}-Pro^{100c}-Asp¹⁰¹-Tyr¹⁰² 多肽结构, Fab10F7 上的 Ala²⁶-Tyr²⁷-Thr²⁸-Phe²⁹-Thr³⁰-Ser³¹-Tyr³² 和 Gly⁹⁵-Gly⁹⁶-Thr⁹⁷-Gly⁹⁸-Asp⁹⁹-Phe¹⁰⁰-His^{100a}-Tyr^{100b}-Ala^{100c}-Met^{100d}-Asp¹⁰¹-Tyr¹⁰² 多肽结构, 可作为针对 HA 中和表位药物设计的多肽结构参考物。

所有这些结果将为 H5 亚型禽流感病毒广谱疫苗和治疗性药物的分子设计提供依据, 为禽流感感染和中和机制以及受体研究提供有用的参考信息。

关键词: 禽流感病毒, 结构预测, 血凝素蛋白, 多肽设计, 广谱表位

Abstract

The H5N1 avian influenza virus has widely spread in Asia, Europe and Africa, causing a large amount of economic loss. Moreover, the virus has infected human, resulting in lots of human died. With the spreading of the virus in birds, the human-by-human infection may become possible if the gene recombination and mutation occurs constantly. It is predicted that there will be more than 100 million human dead because of little or lack of immunity against the virus if the next pandemic breaks out by H5N1. WHO calls on each country to design the strategies for the prevention of the virus. Our research group have found three strains of broad neutral monoclonal antibodies, named 8H5, 8G9 and 10F7 respectively, all of which bind to various H5N1 virus strains well. These monoclonal antibodies are helpful in seeking the broad curative antibodies, developing the vaccine and designing the anti-virus drug against the high mutational H5N1 influenza virus.

In this study, the structures of the three antibodies were modeled by the “canonical structure” method, and then the models were subjected to energy minimization in cvff force field. A lot of verification test programs, such as energy analysis, Ramachandran plot and Profiles-3D were employed to make sure the structures were in good conformation.

The three antibody models were subject to docking with three HA structures found in PDB (PDB ID: 1j5m, 2ibx and 2fk0). From the docking results, we analyzed the binding pattern between the antibodies and the HAs. The binding pattern between the individual antibody with the three HAs was used to search the broad neutral epitopes which the three antibodies binding to and the interacting polypeptides located in the antibodies which may be made use of the reference of the anti-virus drug.

From the docking results analysis, we got the following conclusion: (1) The common epitopes of the three HAs against Fab8H5 were comprised as followings: (the residue in 1j5m) Asp⁶⁸, Asn⁷², (Glu¹¹², Lys¹¹³, Ile¹¹⁴), Pro¹¹⁸, Ser¹²⁰, Tyr¹³⁷, Tyr²⁵². (2) The common epitopes against Fab10F7 were: Asn⁷², (Glu¹¹², Lys¹¹³, Ile¹¹⁴),

(Ser¹²⁰, Ser¹²¹), Arg¹⁴⁵, Tyr¹⁶⁴, Tyr²⁵². (3) The epitopes against Fab8G9 located in the region Glu¹¹² to Ser¹²⁰. (4) The polypeptide located in Fab8H5 which was Tyr⁵⁰-Ser⁵¹-Ser⁵²-Asn⁵³-Leu⁵⁴-Ala⁵⁵-Pro⁵⁶, the polypeptide located in Fab8G9 which was Gly⁹⁵-Ieu⁹⁶-Ala⁹⁷-Thr⁹⁸-Leu⁹⁹-Met¹⁰⁰-Val^{100a}-Leu^{100b}-Pro^{100c}-Asp¹⁰¹-Tyr¹⁰², and the polypeptides located in Fab10F7 which were Ala²⁶-Tyr²⁷-Thr²⁸-Phe²⁹-Thr³⁰-Ser³¹-Tyr³² and Gly⁹⁵-Gly⁹⁶-Thr⁹⁷-Gly⁹⁸-Asp⁹⁹-Phe¹⁰⁰-His^{100a}-Tyr^{100b}-Ala^{100c}-Met^{100d}-Asp¹⁰¹-Tyr¹⁰² may be used as the references for the anti-virus drugs.

The results will provide the valuable information to the development of the broad vaccine and to the design of the curative drug against H5 influenza virus, and the important reference for the research in the mechanic of virus infection and neutralization.

Key words: avian influenza virus, structure prediction, HA, polypeptide design, broad epitopes

ABBREVIATION (缩略词)

aa: amino acid, 氨基酸

AGP: Agar Gel Precipitin, 琼脂免疫扩散试验

AI: Avian Influenza, 禽流感

AIV: Avian Influenza Virus, 禽流感病毒

CDR: Complementarity Determining Region, 抗原决定簇

CH: Constant Region of Heavy Chain, 重链恒定区

CL: Constant Region of Light Chain, 轻链恒定区

CTL: Cytolytic T lymphocyte, 细胞毒性 T 淋巴细胞

Da: Dalton, 道尔顿

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbant Assay, 酶联免疫吸附测定

HA: Hemagglutinin, 血凝素

HI: Haemagglutination Inhibition Test, 血凝抑制实验

IFA: Indirect immunofluorescent assay, 间接免疫荧光检测

kD: kilo Daltons, 千道尔顿

MAP: Multiple antigen peptide, 多抗原肽

NA: Neurominidase, 神经氨酸酶

NLS: Nuclear Location Signal, 核定位信号

NP: Nucleocapsid, 核壳蛋白

NS: Nonstructural, 非结构蛋白

ORF: Open Reading Frame, 开放读码框架

SAS: Solvent Accessible Surface, 溶剂可及化表面积

WHO: World Health Organization, 世界卫生组织

VH: Variable Region of Heavy Chain, 重链可变区

VL: Variable Region of Light Chain, 轻链可变区

vRNA: Virus RNA, 病毒 RNA

前 言

H5N1 病毒引起的禽流感已经使全球各个地方都充满着恐慌。普遍情况下, H5N1 只感染家禽, 主要是鸡和鸭。然而, 1997 年在香港首次发现了 H5N1 菌株感染人类。从第一例 H5N1 感染人开始到 2007 年 6 月份, WHO 已经报道了 313 例人感染的例子, 其中有 191 人死于这种病毒。随着 H5N1 病毒在禽类的连续性爆发, 通过基因重配或者基因突变, 这种病毒有可能在人与人之间传播。如果 H5N1 病毒成为下一次全球性爆发的病毒株, 由于人没有或者几乎没有对这种病毒株的免疫性, 将会有 1.8 亿到 3.6 亿人死于这种病毒^[1]。H5N1 流感病毒已经被认为是危及公共健康安全, 并且有在人群中大规模爆发的潜在病毒。对于 H5N1 流感病毒的防治势在必行。

蛋白质结构模拟技术为蛋白质的研究提供了一种新的手段, 为解决蛋白结构和功能以及蛋白质工程实施方面所面临的难题提供了另外一种可选方法, 实现了生物技术与计算机技术的有效结合。抗体结构模拟技术是蛋白结构模拟技术之一, 通过已知的抗体序列, 可以模拟这个抗体的空间模型, 从而为研究抗原抗体相互作用性质提供了依据。这种方法已经广泛应用于提高抗体亲和力, 抗体的人源化及其抗原表位的分析。

1. 禽流感病毒概述

1.1. 禽流感病毒的形态特征及其化学组成

AIV 属正粘病毒科 (Orthomyxoviridae), 流感病毒属, A 型流感病毒。AIV 具有多型性, 典型的粒子为球形, 直径为 80-120nm, 平均为 100nm, 但也常有同样直径的丝状形态, 长短不一, 有的可达数微米。病毒表面有 10-12nm 的密集钉状物或纤突覆盖, 病毒囊膜内有螺旋形核衣壳。囊膜由纤突, 双层类脂膜和基质蛋白构成, 纤突是在囊膜表面呈放射状排列的突起, 长度约 12-14 nm, 这种表面纤突有两类: 一类是呈棒状, 由 HA 分子的三聚体构成; 另一种是呈蘑菇状, 由 NA 分子的四聚体构成, 两种纤突在囊膜上的比例为 4-5:1。基质蛋白 (M1, M2) 是病毒粒子内的主要蛋白成分, 其形成的基质膜紧贴在类脂双层内面, 包围着核

衣壳, M1是维持病毒形态的结构蛋白, M2是非结构蛋白仅由甲型流感病毒产生。核衣壳呈螺旋对称, 直径为9-15nm, 由核酸、NP及三种聚合酶 (PB1、PB2、PA) 所组成。

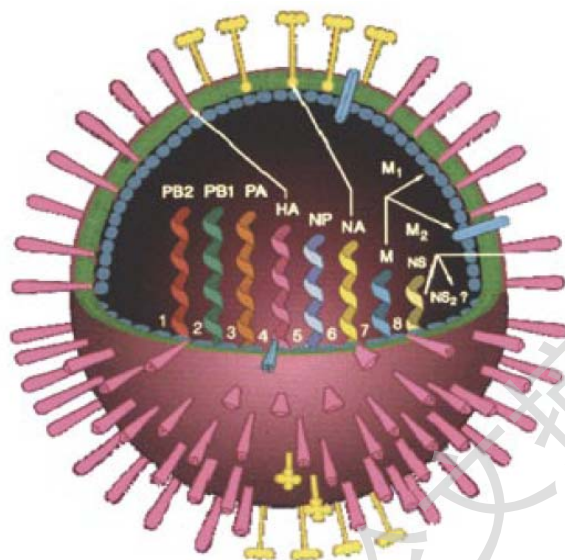


图1-1: 流感病毒颗粒的结构模型

Fig.1-1 The structure of the influenza virus particle

(摘自Thomas, J.K.; Noppenberger, J., Avian influenza: a review, Clinical review, 2007, 64 (2) :149-165)

禽流感病毒粒子大约由0.8%-1.1%的RNA, 70%-75%的蛋白质, 20%-24%的脂质和5%-8%的碳水化合物组成。脂质位于病毒的膜内, 大部分为磷脂, 还有少量的胆固醇和糖脂。几种碳水化合物包括核糖(在RNA中)、半乳糖、甘露糖、墨角藻糖和氨基葡萄糖, 在病毒粒子中主要以糖蛋白或糖脂的形式存在。病毒蛋白及潜在的糖基化位点是病毒基因组特异的, 但病毒膜的糖蛋白或糖类链的脂质和碳水化合物链的成分, 是由宿主细胞确定的。HA切割位点附近寡糖侧链也能影响蛋白水解酶对HA的切割性。

1.2. 禽流感病毒的基因组结构

禽流感病毒基因组为单股、分节段的负链RNA, 共有8个独立的片段组成, 分别以片段1、片段2、...片段8命名, 每个片段代表一个基因, 以与核蛋白或者转录酶结合的形式存在。流感病毒基因组结构的这种分节段性, 使得其极易发生

重组^[2]。通过对这8个节段的序列分析,发现这些节段存在一些共同特点,即所有基因节段的5'端前13个核苷酸均相同,3'端也有12个高度保守的核苷酸,另外在每一节段靠近5'端15位到21位核苷酸处有一保守区,其序列为PolyU,这一序列可以在病毒mRNA合成时产生PolyA^[3]。在这8个片段中,片段1、2、3是编码RNA聚合酶的基因,依次编码PB2、PB1和PA,不同毒株中这三个片段的核苷酸序列有差异,但其编码的氨基酸序列却高度保守。片段4长度约为1.7kb,编码HA,它是禽流感基因组中变异频率最高的一个片段,其全序列结构已经得到分离和测序,基因特性也得到了研究^[4]。片段5长约1.5kb,编码病毒NP蛋白,此片段相对比较保守。片段6长约1.4kb,编码NA,它的变异频率也很高。片段7比较短,只有1.0kb,包括两个ORF,分别编码基质蛋白M1和M2。片段8最短,仅有0.9kb,也包括两个ORF,分别编码NS1和NS2两种非结构蛋白。虽然禽流感病毒基因的高突变性给研究带了困难,但对于所有人源和部分鸡源的H5N1的全部核苷酸序列已获知,系统发育分析也已完成^[5-9]。

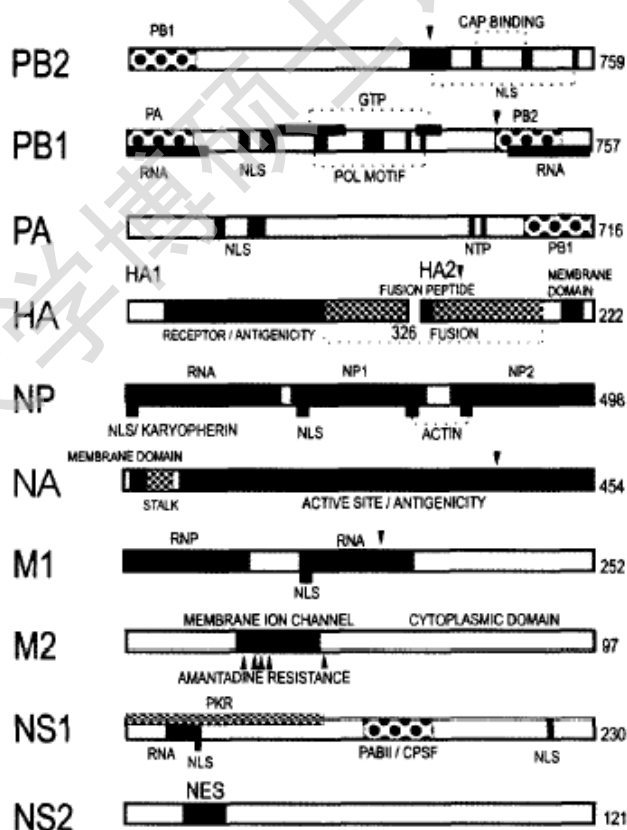


图1-2: 禽流感病毒基因编码图

Fig.1-2 The functional map of genes encode by influenza virus

(摘自 E.G. Brown, Influenza virus genetics, Biomed & Pharmacother 2000, 54 : 196-209)

1.3. 禽流感病毒蛋白特征

HA属于I型糖蛋白，大约有550个氨基酸，以三聚体形式存在于囊膜表面，是病毒表面的主要刺突成分，在病毒吸附、穿膜以及决定病毒的宿主特异性和致病力方面均起着关键的作用。每个HA蛋白由HA1和HA2两个亚单位经二硫键连接组成，其能否被裂解为两个亚单位是病毒感染细胞的先决条件，亦是决定病毒致病力高低的关键因素之一。细胞内识别和切割HA糖蛋白的特异性蛋白酶在机体不同细胞内的活力是影响病毒在体内分布的主要因素之一。在低致病性AIV中，HA切割位点上游通常只有一个碱性氨基酸(Arg)；但在高致病性AIV，HA的裂解位点上游含4个或4个以上碱性氨基酸(-R-K-K-R-)，这一结构可被多种组织细胞内的蛋白酶识别，因而病毒在机体内广泛分布，一旦感染便会突破器官屏障而迅速扩散至全身^[10]。如HA易于切割，病毒株有较高的致病力，反之则较低。另外，HA是流感病毒中突变率最高的蛋白，但组成受体结合位点的氨基酸则相对保守，而受体结合位点和相应细胞受体的结构是决定流感病毒宿主特异性的主要因素。病毒要感染细胞必须首先与细胞膜上的特异性受体（即病毒受体）结合。流感病毒常见受体有两种，一种为唾液酸 α -2,6半乳糖(SA2,6Gal)，另一种为唾液酸 α -2,3半乳糖(SA2,3Gal)。与哪一种病毒受体结合，决定于HA第226位（流感病毒受体结合位点）上的aa，如果是Gln，则与受体SA2,3Gal结合；如果是Leu，则与受体SA2,6Gal结合；如果是Met，则与这两种受体都可以结合。人流感病毒多为SA2,6Gal结合特异性；禽流感病毒多为SA2,3Gal结合特异性^[11-13]。一般而言，禽流感病毒与人的呼吸道上皮细胞表面的唾液酸寡糖受体不能很好的结合，从而限制了禽流感病毒在人体的复制。HA作为病毒最重要的表面抗原，可诱生保护性抗体及细胞免疫，是当前流感疫苗的主要成分，亦是寻找中和性抗体的关键考虑因素^[14, 15]。

NA也是A型AIV主要表面抗原之一，是一种外切糖苷酶，属于II型糖蛋白，以四聚体形式存在，它的一级结构包括氨基端胞浆尾、非极性跨膜区、茎部和头部共4个结构域^[16]。NA能从感染的细胞水解去除细胞表面受体特异性糖蛋白末端的唾液酸(N-乙酰基神经氨酸)。病毒在细胞表面成熟时，NA可以移去细胞膜出芽点上的神经氨酸，有利于子代病毒粒子的释放与防止病毒粒子聚集，

对病毒在感染细胞周围的扩散能力有很大影响^[17]。NA的另一作用是穿透呼吸道表面的黏膜，促进病毒在机体内的传播，与病毒的宿主嗜性及毒力有关。NA具有免疫原性，其诱导产生的抗体可以抑制该酶活性，并具有免疫保护作用。再者，流感病毒的神经氨酸酶也与唾液酸识别相关^[18-21]。Suzuki 研究组对在鸟类和人类中流行的病毒株的 NA 对酸的稳定性进行了比较，结果发现鸟类流感病毒在酸性环境下仍保持稳定，而人类流感病毒对酸不耐受^[18, 21]。根据 AIV 表面 HA 和 NA 的不同可以分为:16 种 HA (H1- H16)和 9 种 NA(N1- N9)^[22]。研究发现，NA 蛋白在抗 AIV 药物有重要作用，从越南女孩分离到的一株 H5N1 病毒中发现，His²⁷⁴ 突变成 Tyr²⁷⁴ 后，对药物达菲(oseltamivir)有抗性，而对药物扎那米韦(zanamivir)没有抗性^[23]。

NP是一种单体磷酸化的多肽，它是构成病毒核衣壳的主要蛋白成分，与病毒RNA共同组成核蛋白体^[24]。NP对病毒RNA有保护作用，可以防止RNA的降解，它也参与病毒的转录和翻译过程，此外，也有研究表明，NP在决定病毒宿主特异性中起重要作用^[25]。该蛋白具有种群和型特异性，是流感病毒划分为A、B、C型的主要依据。NP的特异性使其可以作为禽流感AGP和ELISA的诊断抗原主要成分，用于检测各种亚型的禽流感病毒感染，避免了用全病毒作抗原导致毒性的危险。再者，其分子上至少有3个独立的抗原位点，其中1个位点与基因组的体外转录有关，在各流感病毒株中均有存在，可用于制备抑制AIV的RNA体外转录的单克隆抗体。另外，NP蛋白有CTL的识别靶位，产生一定的免疫保护，成为诱导机体免疫保护性的一个研究目标，但体外合成的NP免疫动物，却只能产生微弱的抗感染能力^[26]。王振国等通过RT-PCR法对NP基因进行克隆，并与GeneBank公布的6株A型流感病毒NP基因序列进行比对，证实各毒株之间NP基因核苷酸序列同源性为92.5%-95.9%，编码的氨基酸同源性为97.0%-98.4%。有研究者试图克隆NP基因进一步制作亚单位疫苗，来诱导产生广谱的免疫保护力。

第7节段RNA编码的蛋白称为M1，部分分子量较小的蛋白称为M2。M1由252个aa组成，分子量约26kD，多肽链上无糖基化位点，除了作为结构蛋白外，M1具有RNA连接和膜连接能力，能够参与调控病毒的转录和被感染细胞的胞核与胞浆间的物质转运^[27]。M1上氨基端91-111位aa与RNP复合物组成了NLS和M1蛋

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库