

M：标准；1：pQE-80L/HMGB1 M5 未经 IPTG 诱导；2：pQE-80L/HMGB1 M5 经 IPTG 诱导后；3：pQE-80L/HMGB1 M6 未经 IPTG 诱导；4：pQE-80L/HMGB1 M6 经 IPTG 诱导后；5：pQE-80L/HMGB1 未经 IPTG 诱导；6：pQE-80L/HMGB1 经 IPTG 诱导后

图 7　重组 M5、M6 HMGB1 蛋白表达的 SDS-PAGE 分析

Western blot 分析显示，经 IPTG 诱导的含重组原核表达载体 pQE-80L/HMGB1、pQE-80L/HMGB1 M1、pQE-80L/HMGB1 M2、pQE-80L/HMGB1 M3、pQE-80L/HMGB1 M4、pQE-80L/HMGB1 M5、pQE-80L/HMGB1 M6 的菌体裂解物能与抗人 HMGB1 单抗特异性反应，在约 30×10^3 处呈现一条带，说明所表达的重组蛋白的确是目的蛋白（图 8）。



M：标准；1：pQE-80L/HMGB1 M1 经 IPTG 诱导；2：pQE-80L/HMGB1 M2 经 IPTG 诱导后；3：pQE-80L/HMGB1 M3 经 IPTG 诱导；4：pQE-80L/HMGB1 M4 经 IPTG 诱导后；5：pQE-80L/HMGB1 M5 经 IPTG 诱导；6：pQE-80L/HMGB1 M6 经 IPTG 诱导后；7：pQE-80L/HMGB1 经 IPTG 诱导后；8：对照 pQE-80L 空载体

图 8　重组蛋白的 Western blot 分析

3　讨论

已有研究表明细胞外的 HMGB1 能引起炎症反应，参与感染和炎症的病理进程[7-9]。最近，HMGB1 被证明是一种全身炎症反应晚期炎症介质[4]。虽然在全身炎症反应中组织损伤和器官衰竭的发病机制是一个很复杂的过程，不能归结为某一个因素，但是一些研究表明对于与炎症脓毒症有关的致死性多器官功能衰竭，HMGB1 是一个必需的重要的中间介质[9-11]。因此，HMGB1 有望成为炎症治疗的新的靶标。

本实验旨在通过基因工程技术构建 HMGB1 的 6 个突变体，目前已成功表达并鉴定了 6 个突变体蛋白。以后的研究将从中筛选出只能与 HMGB1 受体结合，没有致炎效应的突变体，通过竞争性抑制的作用达到抗炎的作用，对研究新型炎症晚期抗炎制剂有一定的意义。

参考文献：

1　Goodwin G H, Sanders C, Johns E W. A new group of chromatin-associated proteins with a high content of acidic and basic amino acids[J]. Eur J Biochem, 1973, 38(1): 14-19.

2　Abraham E, Arcaroli J, Carmody A, *et al*. HMG-1 as a mediator of acute lung inflammation[J]. J Immunol, 2000, 165(6): 2950-2954.

3　Czura C J, Wang H, Tracey K J. Dual roles for HMGB1: DNA binding and cytokine[J]. J Endotoxin Res, 2001, 7(4): 315-321.

4　Wang H, Bloom O, Zhang M, *et al*. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice[J]. Science, 1999, 285(5425): 248-251.

5　Yang H, Wang H, Tracey K J. HMG-1 rediscovered as a cytokine[J]. Shock, 2001, 15(4): 247-253.

6　Li J, Kokkola R, Tabibzadeh S, *et al*. Structural basis for the proinflammatory cytokine activity of high mobility group box 1[J]. Mol Med, 2003, 9(1-2): 37-45.

7　Ulloa L, Batliwalla F M, Andersson U, *et al*. High mobility group box chromosomal protein 1 as a nuclear protein, cytokine, and potential therapeutic target in arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2003, 48(4): 876-881.

8　Lotze M T, Tracey K J. High-mobility group box 1 protein (HMGB1): nuclear weapon in the immune arsenal[J]. Nat Rev Immunol, 2005, 5(4): 331-342.

9　Ulloa L, Tracey K J. The "cytokine profile": a code for sepsis[J]. Trends Mol Med, 2005, 11(2): 56-63.

10　Riedemann N C, Guo R F, Ward P A. Novel strategies for the treatment of sepsis[J]. Nat Med, 2003, 9(5): 517-524.

11　Wang H, Czura C J, Tracey K J. Lipid unites disparate syndromes of sepsis[J]. Nat Med, 2004, 10(2): 124-125.

（编辑　陈聪连）

《第三军医大学学报》的总被引频次和影响因子持续升高

2006 版中国科技期刊引证报告（核心版）的数据显示，《第三军医大学学报》2005 年度的总被引频次为 1477 次（2004 年度为 1226 次），位列 1652 种统计源期刊的 116 位；影响因子为 0.381（2004 年度为 0.333），位列 1652 种统计源期刊的 642 位。在 42 种医科大学学报中，《第三军医大学学报》的总被引频次位列第二，影响因子位列第九。