



论文

中国人功能基因克隆与鉴定研究的文献与专利分析

夏燕^{①②†}, 唐丽莎^{①②†}, 姚磊^{①②}, 万波^{①②}, 杨鲜梅^{①②}, 余龙^{①②*}

① 复旦大学生命科学学院, 遗传工程国家重点实验室, 上海 200433;

② 复旦大学生物医学研究院, 上海 200032

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: longyu@fudan.edu.cn

收稿日期: 2011-08-27; 接受日期: 2011-10-13

国家自然科学基金创新研究群体项目(批准号: 30024001)、国家重点基础研究发展计划(批准号: 2004CB518605)、国家科技重大专项(批准号: 2008ZX10002-020)、国家高技术研究发展计划(批准号: 2006AA020501, 2001AA221081)资助

摘要 人类基因组计划于 20 世纪 80 年代末启动. 与此同时, 各国的人类功能基因鉴定和克隆工作也相继开展. 中国相关领域的研究人员敏锐地意识到对这一新兴领域的探索必将给生命科学和人类健康带来深远的影响, 并于 20 世纪 90 年代开始相关的研究. 为加快中国在该领域的发展步伐, 20 世纪 90 年代中期, 中国高技术研究发展计划(“863”计划)生物领域专家委员会提出了“两个百分之一”的目标, 即测序工作量占人基因组测序总量的百分之一, 克隆和鉴定的人类功能基因占人类基因总数的百分之一. 近 20 年来, 中国在基因组测序和功能基因组研究领域已取得了长足进步. 为人们所熟知的成果就是中国承担的人类基因组计划“百分之一”测序任务的完成. 然而, 关于中国克隆和鉴定人类功能基因“百分之一”的工作则未见有完整报道. 本文利用美国国立生物技术信息中心(NCBI)GenBank 数据库、PubMed 文献搜索工具和中华人民共和国国家知识产权局专利检索数据库, 以中国首先发表文章报道人类新基因的克隆与鉴定及人类基因序列是否获得授权专利为筛选标准进行检索分析, 截止 2011 年 6 月底, 确定的由中国报道的人类功能新基因共 589 个, 并且授权的基因序列专利共 159 条(<http://gene.fudan.sh.cn/introduction/database/chinagene/chinagene.html>). 本文系统地总结了中国在人类功能基因组学研究上的成果, 回答了中国在人类功能基因克隆和鉴定方面“百分之一”的工作是否完成的问题.

关键词基因克隆
基因鉴定
人类功能基因

早在 20 世纪 70 年代早期, 科学家就已经开始了 DNA 测序的研究^[1,2]. 自从 Sanger 等人^[3]将双脱氧核糖核苷酸法引入测序工作以来, DNA 序列测定的效率和准确性大大提高. 由于技术的突破, 1985 年由美国科学家牵头, 正式提出了人类基因组计划(human

genome project, HGP), 并在 1990 年多国科学家携手促成了该重大科学项目的启动; 2000 年 6 月 26 日, 中、美、英、日、德、法 6 国宣布人类基因组工作草图绘制完成; 2003 年 4 月, 人类基因组“精细图”公布^[4]. 这些重大成果对于人类认识自身, 推动生命

科学、医疗保健等领域的发展具有历史性意义。通过中国科学家的努力,中国于1999年9月加入人类基因组计划,得到了人类3号染色体短臂上约30 Mb的测序任务,约占整个人类基因组的1%。虽然科学家们完成了人类基因组计划中绝大部分的测序任务,但是测序工作的完成不等于人类功能基因研究的完成。尽管对人类功能基因的预测由10万个减少到3万个左右,对基因功能的认识却远没有跟上基因组测序的“步伐”。可以预见,在现阶段及今后一个相当长的时期内,基因功能研究将一直是生命科学的核心内容。

基因的克隆和鉴定是基因功能研究的关键步骤。实际上对人类功能基因的克隆和鉴定工作,早在人类基因组计划起步之前的20世纪70年代末期就已经开始。人类生长激素^[5]、人类胎儿丙种球蛋白^[6]是较早被克隆和鉴定的人类基因。后来,伴随着测序、计算机等一系列技术的“革命”,基因克隆和鉴定的工作开始加速发展。电子克隆(*in silico cloning*)技术的引入更是大大加快了人类基因研究工作的进展。随后,大规模、高通量的基因组测序技术的出现,使越来越多的生物的完整基因组序列被测定,为人类功能基因克隆和鉴定提供了极大的便利。

中国科研工作者早在20世纪90年代初便已开始涉足人类功能基因的克隆和鉴定领域^[7,8],但发展一直较慢。直到20世纪90年代中期,中国国家高技术研究发展计划(“863”计划)生物领域专家委员会提出了“两个百分之一”的目标,即测序工作量占人基因组测序总量的百分之一,克隆和鉴定的人类功能基因占人类基因总数的百分之一。在中华人民共和国科学技术部、中华人民共和国国家自然科学基金委员会的大力资助下,中国人类功能基因克隆和鉴定研究的技术设备和相关科研人员都有大幅度的增加,使中国在该领域取得了迅速的发展,基本赶上了世界功能基因组学的研究步伐。

近年来,由于人类功能基因组研究蕴含的巨大的科研价值与经济利益,各国政府和跨国企业不惜投入巨大的人力物力,纷纷加入到这项庞大的研究工作中。中国政府和各个相关研究机构也非常重视人类功能基因组的研究工作。各级政府、高校和众多科研机构对中国人类功能基因组学研究投入了巨大的人力和物力。关于中国人类功能基因组研究的进展情况,国内外尚未见全面的报道。为弄清中国在这

方面的研究进展,在人类基因组工作草图绘制完成的11年后的今天,以中国首次在国际上发表文章报道新基因的克隆和鉴定,以及人类基因序列是否获得授权专利为标准,统计了中国首先克隆和鉴定的人类功能基因情况,试图总结中国“两个百分之一”目标中人类功能基因克隆和鉴定工作的成绩。

1 材料与方法

从美国国立生物技术信息中心(NCBI)服务器(ftp://ftp.ncbi.nih.gov/genomes/H_sapiens/)上,下载获取人类基因组数据。通过分析人类基因组数据,得到蛋白质编码序列及其参考序列号。在NCBI的GenBank数据库中查找参考序列是否有文献注释,并排除没有研究报道的参考序列。统计并排除注释文献中仅有大规模测序、数据库、网络调控,仅有基因突变或单核苷酸多态性研究,仅有基因启动子的克隆,报道假基因,报道同一个基因的变异剪接本、同形异构体等的非人类基因的文章,对筛选后剩下的文献取1985年以后的第一篇作为这个基因克隆和鉴定的首次报道文献。通过NCBI中PubMed检索系统获取文献的第一单位、作者以及国家等信息。由此得到中国首先报道的基因,并手工逐个校对。根据收集的信息,得到若干发表文章较多的课题组,并以通讯作者、发表单位等为关键词,再次在NCBI的PubMed检索系统中查找,寻找更多中国首先克隆鉴定人类基因的文献。利用中华人民共和国国家知识产权局专利检索数据库(<http://www.sipo.gov.cn/>),在高级检索的摘要部分,以多核苷酸、多肽、序列为关键词进行搜索,排除检索结果中未授权项、非中国单位公司申请项等,得到中国关于人类功能基因序列方面申请并授权的专利。以专利授权较多的发明人为关键词,再次搜索中国专利数据库。综合以上数据,得到中国克隆和鉴定的人类功能基因,并进行人工校对和分析。

2 实验结果

2.1 文献中报道的基因

从NCBI服务器下载得到人类基因组数据,经分析得到43159条序列明确注释的基因,包括编码蛋白质、RNA基因、假基因等各类序列,其中编码蛋白

基因为 34511 条. 为了解各国在人类功能基因克隆和鉴定领域所做的工作, 对 NCBI 人类基因组数据中有文献注释的编码蛋白基因 17428 条进行人工筛选. 按照方法中的标准最后收集了 14944 个人类编码蛋白基因, 并以其首先报道文章的第一单位所属的国家, 对各国在克隆和鉴定人类功能基因方面的工作做出粗略的统计(图 1(B)).

参与人类基因组计划的美国、日本、德国、英国、法国、中国 6 国克隆的功能基因数目占到已克隆和鉴定的人类基因的 76.01%, 这些国家通过参与基因组计划, 显示了在人类功能基因的克隆和鉴定方面存在巨大的优势.

实际上, 通过 NCBI 人类基因组参考序列的文献注释, 来确定基因的首先报道国家是不完整的. 由于注释文献的复杂性和滞后性, 使很多基因没有被注释或者注释不完善. 为进一步了解中国在克隆功能基因方面的确切工作, 从已有的注释文献中, 找到发表文章较多的通讯作者及其单位, 以这些为关键词到 PubMed 检索系统中查找相关文献, 发现了更多中国首先报道的人类功能基因, 作为对 GenBank 中查找得到序列的补充.

到 2011 年 6 月底, 中国首次报道克隆和鉴定人类功能基因的文章共 544 篇, 涉及 589 个人类基因 (<http://gene.fudan.sh.cn/introduction/database/chinagene/chinagene.html>), 其中中国大陆地区共克隆 523 个基因, 中国香港地区克隆 25 个基因, 中国台湾地区克隆 41 个基因(图 2(A)). 对 544 篇文献分别从 SCI 影响因子(IF)、被引用次数、发表年份、文章发表第

一单位、基因功能(依据 GO(gene ontology)注释)等方面进行统计和分析, 其中引用次数查询依据 SCI 网络版数据库(Web of Science)(<http://apps.webofknowledge.com/>), 引用时间截止为 2011 年 6 月 30 日. 影响因子查询依据 Web of knowledge-Journal Citation Reports-Science, 选取 2010 年的影响因子进行统计.

从文章影响因子方面看(图 2(B)), 香港中文大学于 2003 年对于人源睾丸发育基因 *NYD-SP27*^[10] 的研究发表在 *Lancet* 杂志上(IF 为 33.633), 是迄今为止中国首次报道克隆和鉴定人类功能基因所发表的影响因子最高的杂志. 总体来说, 中国对于基因克隆和鉴定的文献, 有一半以上(342/544)发表在影响因子为 1~5 之间的杂志, 发表在影响因子为 10 以上的文章仅有 14 篇(2.57%), 其中中国大陆为 11 篇, 论文涉及的基因分别是 *Apak*^[11], *OLCI*^[12], *LPTS*^[13], *LZP*^[14], *ALCI*^[15], *Hsp70LI*^[16], *KLRLI*^[17], *HAPO*^[18], *ZBTB16*^[19], *SIKEI*^[20] 和 *SIP*^[21], 其中关于 *Apak*^[11] 基因的研究, 发表的杂志影响因子最高(*Nature Cell Biology*, IF 为 19.407). 从文献被引用次数的情况看, 截止到 2011 年 6 月底, 所有文章被引用共计 5909 次, 平均每篇文章被引用约 10.9 次(图 2(C)). 1993 年, 上海交通大学附属瑞金医院陈竺课题组在 *EMBO J* 上报了 *ZBTB16* 基因的克隆鉴定及其在急性早幼粒细胞白血病中的作用^[19], 引用率最高, 已被引用 447 次. 但是总体来看, 引用次数 ≤ 10 的论文居多数, 占 72.06% (392/544)(其中引用频次为零的论文为 91 篇), 反映了这些文章的影响力度不够, 研究深度不够. 在 43

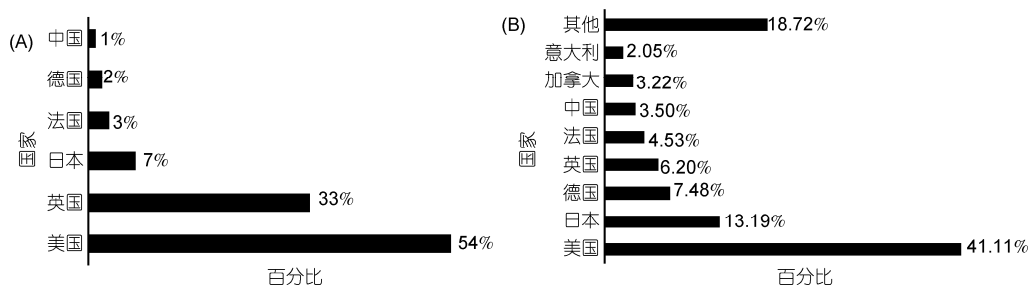


图 1 各国在人类基因组计划中完成的测序量与在人类功能基因克隆和鉴定上工作的比较(数据截止于 2011 年 6 月底)

(A) 各国在人类基因组计划中完成的测序量^[9], 其中中国承担了人类 3 号染色体短臂上约 30 Mb 的测序任务, 约占整个人类基因组计划的 1%; (B) 各国克隆和鉴定的人类功能基因的数目. 美国克隆和鉴定约 6143 条人类功能基因, 日本克隆和鉴定约 1971 条人类功能基因, 德国克隆和鉴定约 1118 条人类功能基因, 英国克隆和鉴定约 927 条人类功能基因, 法国克隆和鉴定约 677 条人类功能基因, 中国大陆克隆和鉴定约 523 条人类功能基因, 加拿大克隆和鉴定约 481 条人类功能基因, 意大利克隆和鉴定约 307 条人类功能基因, 其他国家和地区克隆和鉴定约 2797 条人类功能基因. 中国大陆的贡献率为 3.50%, 在所有国家中排名第 6

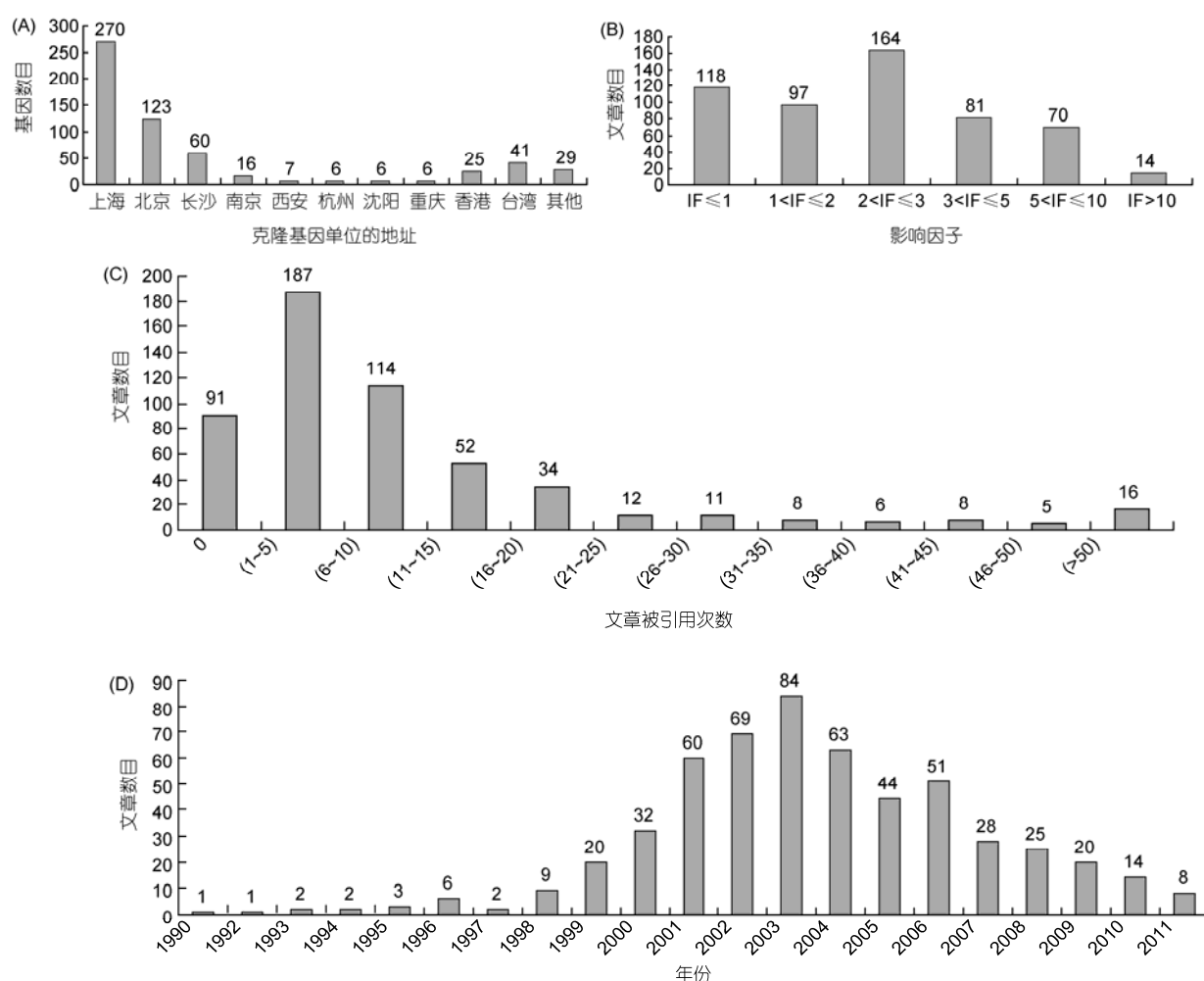


图2 中国首次克隆和鉴定的人类功能基因文献分析

(A) 报道基因文献的第一单位地址分类, 其中上海占总数的 45.84%, 北京和长沙分列第 2 和 3 位, 香港和台湾地区也有部分工作; (B) 报道基因文献的影响因子, 影响因子 $IF \leq 5$ 的占多数, 达到 84.56%; (C) 发表文章被引用次数. 超过 20 次引用的文章数目为 66 篇, 但是引用在 0~10 次之间的文章占绝大部分, 约为 72.06%; (D) 发表文章的年份, 中国克隆和鉴定人类功能基因的高峰出现在 2003 年, 以后相关的文章数量逐渐下降

篇引用次数>30 次的论文中, 中国大陆共 32 篇 (74.4%), 论文涉及的基因包括 *ZBTB16*^[19], *NDRG2*^[22], *TRAF19*^[23] 等. 从论文发表的时间看(图 2(D)), 中国在 20 世纪 90 年代就开始了克隆人类功能基因的工作. 1990 年, 台湾中央研究院分子生物学研究所钟邦柱课题组进行了人类铁氧化还原蛋白基因家族中的 *FDX1* 基因的结构、测序、染色体定位以及进化分析^[7]. 在本研究的统计中, 这是中国被 NCBI 基因注释收录的最早的研究工作. 大陆这方面最早的工作是 1992 年中国医学科学院王琳芳课题组的一项研究. 他们成功克隆了一个与不育相关的编码男性精子蛋

白的基因 *HSD-3.8*^[8]. 总体上讲, 中国人类功能基因克隆和鉴定的工作可分为 3 个阶段: 1999 年以前为第一个阶段, 中国在该阶段只有零星的文章发表, 各个课题组基本处于技术摸索阶段; 2000~2003 年, 随着各个实验室技术平台的相继完善, 越来越多的基因被中国科学家首先报道; 2004 年以后是第 3 个阶段, 科研工作的重心已不再是克隆鉴定新的人类功能基因, 这方面的文章数目开始显著下降, 研究重点已转移到这些基因的生物学功能. 从发表文章的第一单位来看(表 1), 复旦大学在国内较早构建了多种人类 cDNA 文库, 并同时开展了大规模测序分析, 发表了

表 1 中国克隆和鉴定的人类功能基因发表文章情况统计(数据截止于 2011 年 6 月底)

发表文章第一单位	文章数目	基因数目
复旦大学	175	192
北京大学	39	54
中国医学科学院	39	39
湖南师范大学	33	34
中国人民解放军第二军医大学	32	32
中南大学	23	23
中国科学院上海生命科学研究院	18	18
上海交通大学	15	15
南京医科大学	14	14
中国人民解放军军事医学科学院	12	14
香港和台湾地区	63	66
其他	81	88
合计	544	589

关于基因克隆和鉴定的文章 175 篇, 率先报道了大约 192 个人类功能基因, 其中绝大多数为复旦大学遗传工程国家重点实验室所完成. 从基因功能的角度看, 本研究对中国首先克隆和鉴定的人类功能基因进行了 Gene Ontology^[24] 分析并参考相关文献, 对这些基因的分子功能(图 3(A))、细胞水平的生物学功能(图 3(B))以及可能的宏观生物学功能(图 3(C))进行了统计分析.

2.2 授权专利中报道的人类功能基因

将有应用价值的人类功能基因申报专利, 是一项非常重要的工作. 在外国公司、企业纷纷注册人类功能基因专利的同时, 中国科研机构和企业的相关申请工作也逐渐被重视. 通过搜索中华人民共和国国家知识产权局专利检索数据库, 发现到 2011 年 6 月底, 中国关于人类基因序列的授权专利为 159 条 (<http://gene.fudan.sh.cn/introduction/database/chinagene/chinagene.html>). 申请这些专利的单位和企业主要集中在在中国科研基础雄厚的上海和北京地区(图 4(A)). 申请最为集中的领域就是肿瘤相关基因的应用, 其次为免疫相关的基因(图 4(B)). 中国人类功能基因的专利申请还呈现出科研机构参与较多, 而企业程度较低的特点(图 4(C)和表 2). 从专利授权数量上看, 以顾健人为主要发明人的团队得到授权基因序列专利 50 项(表 2), 其中绝大部分为肝癌相关的标记物和抑癌基因. 此外, 25 个基因序列被美国授予专利^[25~49], 3 个基因序列被欧洲共同体授予专利^[50~52], 2 个基因序列被加拿大授予专利^[53,54].

3 讨论

本文通过收集中国在人类功能基因克隆和鉴定领域首先发表的文章和授权的专利, 回顾了中国近 20 年来在此研究领域的工作. 中国科研工作者在肿瘤、生殖、免疫、发育等相关领域的基因克隆和鉴定方面取得了诸多成果, 以下列举了其中有代表性的成果.

复旦大学遗传工程国家重点实验室在较早的时期就开展了人类功能基因的克隆和鉴定工作, 在国际上首先报道了 192 个人类功能新基因, 其中 *TRPT1*^[55] 编码 tRNA 2'-磷酸转移酶, 参与人 tRNA 前体的剪接和成熟, 同时在功能上可以弥补酵母 *tpt1* 基因突变造成的功能缺失; *ITPA*^[56] 基因从人胎儿脑的 cDNA 文库中克隆得到, 编码次黄苷三磷酸酶, 可以清除体内少量突变和断裂的嘌呤三磷酸核苷; *PKIB*, *PKIG*^[57] 两个基因都属于环腺苷酸蛋白激酶抑制剂基因家族, 负调控环腺苷酸蛋白激酶活性; *ATP5E*^[58] 基因编码人 ATP 合成酶的 ϵ 亚基; *CRYL1*^[59] 在肝癌组织中的表达远低于在正常肝脏组织中的表达水平, 同时检测它在 60 个中国人肝癌组织样本中的表达情况后, 发现在 58% 的样本中有明显下调, 提示这个基因可能是一个候选的抑癌基因; 9 个小 GTP 酶被克隆鉴定, 它们参与肝脏细胞的小泡转运过程, 对肝脏正常功能的维持有重要作用, 在多个肝癌样本中检测到它们表达水平的变化^[60]; *PPAPDC1B* 基因在转移后的肿瘤组织中的表达水平远低于转移前的肝癌组织. 体内和体外实验都证明, *PPAPDC1B* 可以抑制肝癌细胞的转移, 它可能是一个新的肝癌转移抑制基因^[61];

MAP1LC3A, *MAP1LC3B* 和 *MAP1LC3C* 3 个基因参与细胞的自噬, 其中 *MAP1LC3B* 的一种新的翻译后修饰机制被发现^[62]. 利用人胎儿脑 cDNA 文库, 鉴定了一批和大脑发育相关的基因, 如 *BTBD8*^[63], *C14orf5*^[64], *C4orf13*^[65], *SEC14L3*^[66], 另外 *HN1*, *HN1L* 还被认为可能和胚胎发育相关^[67]. 一大批生殖相关的基因被克隆鉴定, 如 *PPP3RL* 在睾丸的成熟和产生精子中有重要作用^[68]; *NDRG3* 的 mRNA 在生精上皮细胞外层聚集, 可能与精子发生相关^[69]. 此外, 以余龙为主要发明人的团队获得 14 项人类新基因专利授权, 主要包括新的溶菌酶基因家族成员 *LYC1*^[70], *LYC2*^[71], *LYC3*^[72] 以及人尿苷酸-胞苷酸激酶等^[73].

上海交通大学瑞金医院血液学研究所较早开展了白血病的研究, 特别是在急性早幼粒细胞白血病 (APL) 的研究中取得重大进展, 阐明了 *ZBTB16* 基因在急性早幼粒细胞白血病发病中的重要作用^[19]. 同时, 克隆鉴定了利用全反式维甲酸 (ATRA) 等诱导治疗急性早幼粒细胞白血病时促进分化的基因 *IFIT3*^[74], *LY6E*^[75] 等, 对于理解急性早幼粒细胞白血病发病的细胞和分子机制以及改进治疗策略有重大意义. 上海肿瘤研究所对 17 号染色体短臂的序列进行了大规模的测定, 找到了一大批与肝癌发病相关的基因, 包括 *RNMTL1*^[76], *GLD4*^[77], *HCCS1*^[78] 等, 并被授权了大量与肝癌诊断和治疗相关的专利, 如 *MAGED1*^[79],

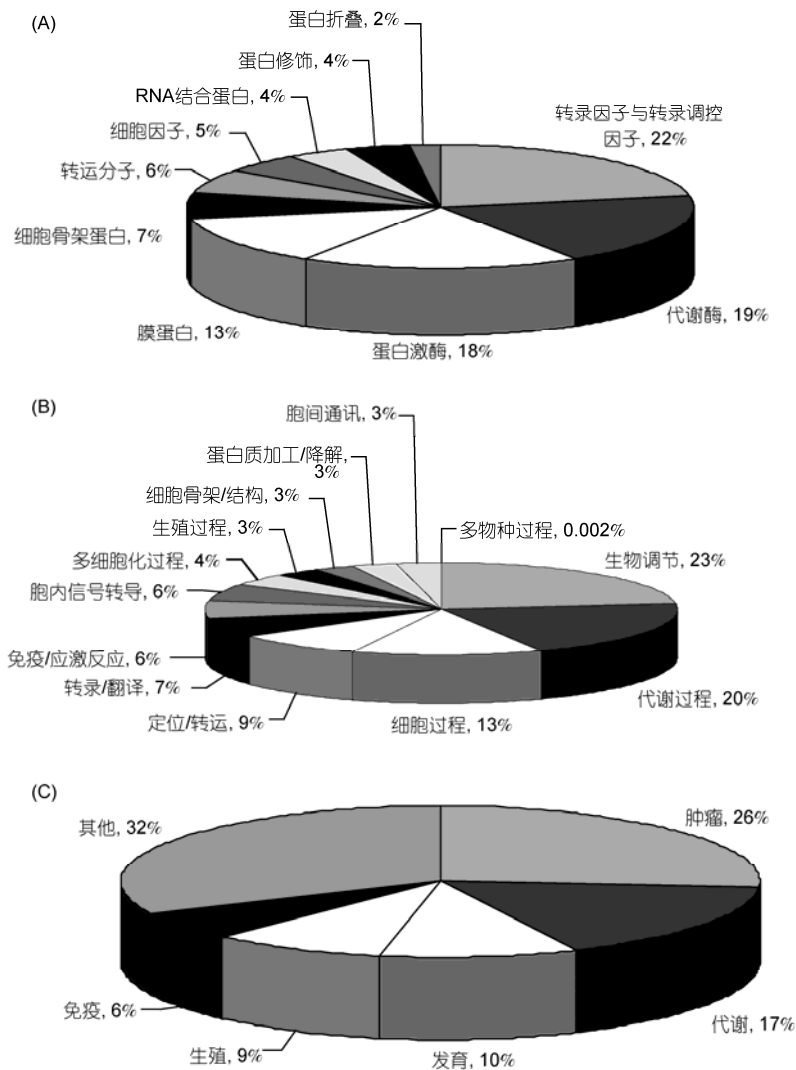


图3 中国克隆和鉴定的人类功能基因的分子、细胞、整体水平的功能分类
(A) 基因按分子功能分类; (B) 基因按细胞水平的功能分类; (C) 基因按可能的宏观生物学功能分类

TSP1^[80]等为新的肝癌标志物,可用于诊断肝癌;*BNIP1* 等对肝癌细胞生长有抑制和促凋亡作用^[81]. 国家人类基因组南方中心克隆得到 *LZP*^[14], 该基因编码的蛋白在肝脏中特异性表达,可能参与肝细胞的发育及其功能的发挥,并且可能成为潜在的肝癌病理诊断的负向指标. 同时,该中心从造血细胞系中克隆得到 6 个锌指蛋白基因,参与转录调节^[82].

中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所鉴定的 *BTBD7* 是一个新的肝癌发生相关基因,相关研究证明它可以促进 NIH3T3 细胞的增殖,并使小鼠成瘤^[83]. 同时,利用表达差显(RDA)技术找到一个在肝癌细胞中上调的基因 *SVH*, 它有 4 个剪接体: *SVH-A*, *SVH-B*, *SVH-C* 和 *SVH-D*, 但实验发现只有 *SVH-B* 在肝癌的发生中起重要作用^[84]. 他们还克隆

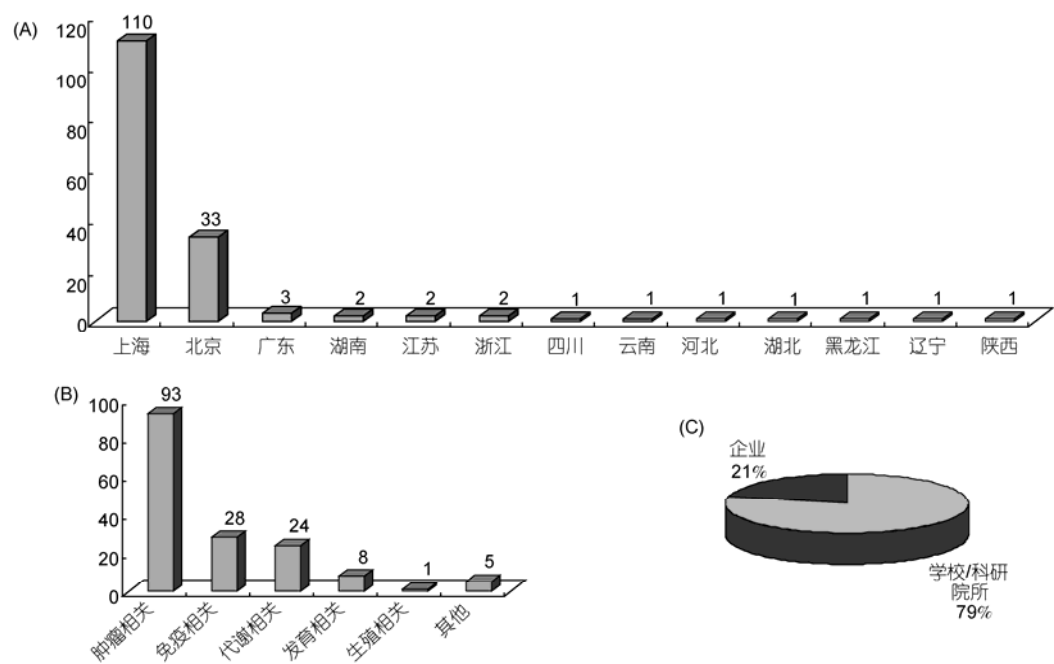


图 4 中国人类功能基因授权专利统计

(A) 中国人类功能基因授权专利的主要申请地区; (B) 中国人类功能基因授权专利的应用分类; (C) 中国人类功能基因授权专利的申请人

表 2 中国和国际专利数据库中关于基因序列专利申请和授权情况(数据截止于 2011 年 6 月底)

主要专利 发明人	授权的中国 专利	授权的中国基因 序列专利	授权的中国基因序列专利申请 人(专利权人)		授权的国外基因 序列专利		
			学校/科研院所	企业	美国	欧洲	加拿大
顾健人	57	50	30	20	2	0	0
余龙	39	14	11	3	7	3	2
曹雪涛	19	14	14	0	0	0	0
马大龙	20	6	5	1	2	0	0
常智杰	20	5	5	0	1	0	0
赵慕钧	7	4	4	0	1	0	0
王红阳	4	3	3	0	0	0	0
吴秀山	2	2	2	0	0	0	0
贺林	15	2	2	0	0	0	0
贺福初	6	1	1	0	0	0	0
毛裕民	10	0	0	0	12	0	0
其他人		58	48	10			
小计		159	125	34	25	3	2

了2个在人类8号染色体短臂上的基因, 定位于肝癌细胞中常出现的杂合缺失区域上. 实验证明, *LPTS*^[13], *VPS37A*^[85]能编码人类肝癌细胞的生长抑制蛋白, 其中*VPS37A*还可以通过降低肝癌细胞的侵袭力来抑制肝癌转移. 另外, *DEFB118*在附睾中特异性表达, 可以保护精子免受微生物的侵害, 是一种人类防御素^[86]; 解旋酶 *Pif1* 通过降低端粒酶的加工能力来抑制其活性^[87]; *CIDE-3* 编码 CIDEs(cell-death- inducing DFF45-like effectors)家族新成员, 诱导细胞凋亡, 因此可能对于肿瘤的预防起重要作用^[88]. 此外, 以赵慕钧为主要发明人的团队申请并被授权了一种新的肝再生相关蛋白——LRTM4 蛋白的专利, 可用于肝脏损伤的修复^[89], 同时新的人肝癌相关抑癌基因 *LPTS*^[90], *HCRPI*^[91]的专利也被授权.

中国人民解放军第二军医大学对人骨髓基质细胞和树突状细胞进行了大规模的 EST 测序及分析, 克隆鉴定了一大批免疫系统相关的功能基因, 其中 *Hsp70L1* 基因编码的蛋白能激活树突状细胞并对辅助 T 细胞有佐剂效应, 可作为肿瘤和传染病的疫苗^[16]; *KLRL1* 是自然杀伤细胞的负调节受体, 对调节 NK 细胞的细胞毒性有重要意义^[17]; *SLAMF9* 在免疫应答中有重要作用^[92]; *CXCL14* 编码巨噬细胞炎症因子, 具有趋化活性, 参与免疫应答^[93]. *Siglec-10*^[94], *DPK*^[95]和 *DPZF*^[96]从树突状细胞中获得, *Siglec-10* 可能在特异的细胞群落中介导细胞通讯, *DPK* 编码的蛋白作为一种新的树突状细胞衍生蛋白激酶, 可以剂量依赖性地激活 ERK1/ERK2 和 JNK/SAPK 通路, 但不影响 p38 通路, 参与信号转导; *DPZF* 编码一个 BTB/POZ 锌指蛋白转录因子, 与 *BCL-6* 同形异体, 可能参与造血, 肿瘤发生和免疫应答. 同时, *hCaMKII α* ^[97]和 *IPP5*^[98]是从骨髓基质细胞中获得的, *hCaMKII α* 编码内源性 CaMKII(钙依赖性蛋白激酶)的抑制蛋白, 通过稳定 p27 蛋白的表达, 引起细胞周期阻滞, 抑制结肠癌肿瘤生长; *IPP5* 编码 PPI(蛋白磷酸酯酶 1)的抑制蛋白, 该蛋白可以促进结肠癌肿瘤生长, 加速其细胞周期进程, 因此可能成为 *IPP5* 高表达肿瘤细胞的药物靶标. 从胎儿大脑 cDNA 文库中筛选得到的 *BTBD10*, 利用 DNA 芯片分析发现它在神经胶质瘤细胞中下调表达, 而且在神经胶质瘤不同阶段表达水平存在差异^[99]. 另一基因 *NBEAL1* 在不同阶段的神经胶质瘤细胞中都有上调

表达, 特别是肿瘤发生的早期阶段, 提示它们可能与肿瘤发生有关^[100]. 另外, 以曹雪涛为主要发明人的团队获得了人类新基因授权专利 14 项, 其中有细胞因子 IFL 蛋白, 可用于治疗多种疾病, 如用于病毒感染、肿瘤、免疫功能低下等^[101]; 新的人趋化因子——巨噬细胞炎性蛋白(MIP)-2 γ , 可用于多种疾病的治疗, 如中性粒细胞缺乏或功能低下、肿瘤、自身免疫性疾病等^[102].

北京大学人类疾病基因研究室重点克隆和鉴定了一系列新的细胞因子和细胞凋亡相关基因. 例如, *CKLF* 是一种趋化素样因子, 在炎症反应和骨骼肌的再生中起重要作用^[103]; *CKLFSF1~CKLFSF8* 是趋化素样因子超家族的 8 个新成员^[104]; 从正在凋亡的 TF-1 细胞系中分离得到 *TFAR19*, 它可以通过控制生长因子引起多种肿瘤细胞系的凋亡, 被认为在细胞凋亡中有重要作用^[23]; *AMID* 编码线粒体蛋白, 具有烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADPH)氧化酶活性, 可诱导 caspase 非依赖性细胞凋亡^[105]. 同时, 还发现了一系列与免疫应答相关的基因. 例如, *SIKE1* 基因参与由病毒引起的体内抗病毒应答, 它通过与 IKKepsilon 和 TBK1 解离, 激活 IRF-3(干扰素调节因子)信号通路, 从而启动 I 型干扰素的转录进行抗病毒应答^[20]. *RNF216*^[106]和 *SINK*^[107]功能相似, 抑制转录因子 NF-kappaB 的转录和激活. 另外, 发现 *p42.3* 基因在胃癌细胞中特异性的高表达, 并且与 M 期的调控相关. 提示该基因可能参与细胞增殖和肿瘤发生, 对于该基因的研究可能对于胃癌的检测和治疗提供依据^[108]. 此外, 以马大龙为主要发明人的团队, 被授权了多项专利, 包括具有骨骼肌刺激活性和免疫调节作用的趋化素样因子超家族^[109]、具有细胞趋化作用和造血刺激活性的趋化素样因子 *CKLF1*^[110]、具有造血刺激和免疫调节作用的细胞因子 *CKLF-H1A*^[111]等. 北京大学医学部通过人类自身抗体筛选到了一大批新的肿瘤相关抗原, 可以作为肿瘤的新的标记或治疗靶点^[112]. 此外, *SIP* 基因能编码一种类固醇激素受体共激活蛋白, 在基因转录调控及乳腺癌发病中有重要作用^[21]; 含有锌指结构的 *ZIP*^[113], 作为一个新的转录抑制因子, 可以抑制细胞增殖, 抑制与表皮生长因子相关的乳腺癌的发生, 提示该基因可能是一个潜在的肿瘤抑制因子; *FAM83A* 和肺癌的发生

有密切的关系, 可以作为肺癌的候选分子标记^[114], *LAPTM4B* 被证实和肝癌、胃癌、肝外胆管癌等多项肿瘤的发生有重要关系^[115].

中国医学科学院基础医学研究所克隆了一大批和精子发生相关的基因. 例如, *SPATA7* 是与人类睾丸中减数分裂相关的基因^[116]; *ZYX* 关系到精子成熟和获能过程^[117]; *VCX/Y* 可能参与调控精子生成过程中核糖体的装配^[118]; *RGPD5* 基因在生殖干细胞产生精子过程中表达, 与精子发生有重要关系^[119]; *BS-63* 表达的蛋白在精子发生过程中将 aF10 蛋白运送到精子细胞核中去, 与精子发生中有重要作用^[120]. 同时还克隆到一系列与食道癌发病相关的基因, 在利用 cDNA 芯片比较食道鳞状细胞癌和正常的组织基因表达时, 鉴定到过表达基因 *EC97* 可能与食道癌发生有关^[121]; *RPL15* 基因在食道癌中高表达, 可能与食道癌的发生有密切关系^[122]; *SPINK7* 是一个新的与食道癌发病相关的基因, 通过抑制 *MT2A* 促进细胞分化和凋亡, 导致肿瘤的发生^[123]; *C2orf40* 基因的高甲基化可能是导致食道癌发病的原因之一^[124]. 此外, 中国医学科学院被授权了一些食管癌相关基因 *NMES1*^[125], *ECRG-2*^[126], *DRC1*^[127] 和 *DRC2*^[128] 的专利. 另外, *OLC1*^[12] 基因在原发性肺鳞状细胞癌中高表达, 香烟刺激人肺癌细胞后, *OLC1* 基因表达水平将明显增高, 提示 *OLC1* 基因与患者的吸烟史密切相关. *OLC1* 基因还能够激活 NF-kappaB 细胞信号转导通路, 其过表达可使小鼠成纤维 NIH/3T3 细胞形成明显的转化集落, 提示该基因是一个新的原癌候选基因; 基因 *HAP0* 编码一种新型生长因子, 在造血和血管内皮细胞系的原始细胞中发挥作用. 同时可能在血细胞减少和辐射损伤的临床处理中起重要作用^[18]; 含有锌指结构的 *RNF13*^[129] 是一个新的 E3 泛素连接酶, 可能与胰腺癌的发生有关; 锌指蛋白基因 *HZF1*^[130] 在红细胞和巨核细胞的分化过程中起重要作用; *RHBDD1*^[131] 作为丝氨酸蛋白激酶, 参与 BCL-2 家族促凋亡成员 BIK 的加工以及由 BIK 介导的凋亡的调控; 在人类扁桃腺细胞 cDNA 文库中筛选到的 *MAN2C1* 是一个新的 α -甘露糖苷酶, BJAB 细胞在抑制 *MAN2C1* 表达后发生 oncosis 样死亡, 可能有抗凋亡作用^[132].

中国人民解放军军事医学科学院放射医学研究

所在人胎肝转录组的建立中鉴定了大量的新基因, 例如, 锌指蛋白基因 *Apak*^[11] 可以直接与 p53 结合, 特异性地下调促凋亡基因, 从而负调控 p53 介导的凋亡; *Ceap-11* 和 *Ceap-16* 是同一个基因的不同变异剪接蛋白, 实验证明这两个蛋白与中心体相结合, 参与微管聚合和细胞增殖^[133]. *SEMA6C*, *SEMA6D* 编码的蛋白都属于跨膜 semaphorin 家族, 这两个基因可能在神经再生方面起到重要作用^[134]; *NGB* 编码氧结合蛋白, 在神经系统氧的摄取、运输和利用等过程中发挥作用^[135]; *CKIP-1* 编码的蛋白在凋亡过程中被 caspase-3 切割, 切割后的 C 末端可以转移至细胞质和细胞核, 通过与 c-Jun 和 JunD 的直接结合来抑制 AP-1 的活性^[136]; 含有锌指结构的 *PACT* 在食道癌中显著上调表达, 其与 p53 互作被认为在胚胎发育和肿瘤形成过程中起重要作用, 并且被认为是 p53 的负调控者^[137]; 含有典型 GATA-1 锌指基序的蛋白 *ARFGAP1* 可能参与生殖过程^[138]; *CUEDC2* 编码的蛋白可以与孕酮受体相互作用, 促进由孕酮诱导的依赖蛋白酶体降解途径的孕酮受体的降解, 从而发现了一种重要的控制孕酮蛋白水平的翻译后调控机制, 可以更好地了解该基因对于乳腺癌增殖的影响^[139].

南京医科大学利用 cDNA 芯片技术检测睾丸差异表达基因, 筛选到了一大批和睾丸发育以及精子发生相关的基因. 例如, *TPD52L3* 是一个类肿瘤 D52 蛋白家族新成员, 它在睾丸中特异性表达, 并且在成体睾丸中的表达水平远高于胎儿. 这些结果提示, 该基因可能与睾丸发育和精子发生有关^[140]; *SPATA16* 基因可能通过参与高尔基体的构建, 在精子发生中起重要作用^[141]; *CCDC65* 是一个在人类睾丸以及精子中高表达的基因, 并发现该基因编码的蛋白在精子尾部聚集, 在精子获能中起重要作用^[142]; 以及 *LDHL6B*^[143], *NYD-SP5*^[144], *ACSBG2*^[145], *PHF7*^[146], *SPATA9*^[147] 等基因也被认为与睾丸发育和精子生成有密切的关系.

中南大学肿瘤研究所克隆和鉴定了一系列与鼻咽癌发病相关的基因, 例如, *CCDC19* 是一个鼻咽上皮细胞中特异表达的基因, 可能与鼻咽癌的发生有关^[148]; 在 *HNE1* 鼻咽癌细胞系中, 下调表达的基因 *C1orf102*, 它的 Glu58Gly 的多态性在鼻咽癌的发生与发展中有重要作用, 提示其可能是一个抑癌基因^[149]. *GGNBP2* 基因定位于肿瘤抑制区域 D17S800-

D17S930, 可能与喉癌的发生有关^[150]。此外, 抑癌基因 *NAG6* 在胃癌组织中表达显著下调, 该基因下调表达可能在胃癌的发生和发展过程中起到一定的作用, 但是与胃癌的转移无明显关系。肿瘤中遗传物质的丢失可能与该基因表达下调有关, 提示 *NAG6* 基因可能是胃癌相关的候选抑癌基因^[151]。 *LRRC4* 基因在脑肿瘤组织中显著下调表达, 推测该基因对于维持正常组织功能和抑制中枢神经系统肿瘤发生起到重要作用^[152]。同时鉴定了 *SPATA12*, 发现它在人类睾丸组织中控制细胞分化、抑制细胞增殖, 可能与精子发生有密切关系^[153]。另外, 发现了 *TSARG2*^[154], *DNAJB13*^[155] 两个和精母细胞的凋亡相关的基因。

湖南师范大学心脏发育实验室通过构建人类早期胚胎心脏 cDNA 文库, 克隆鉴定了一大批发育相关的基因, 其中很多基因属于锌指蛋白基因家族成员, 如 *ZNF641*^[156], *ZNF415*^[157], *ZNF12*^[158], *ZNF569*^[159], *ZNF540*^[160], *ZNF446*^[161], *ZNF649*^[162] 等, 它们主要通过调节 MAPK 信号通路的 AP-1 和 SRE 等蛋白的转录活性来参与心脏的发育。

中国香港和台湾地区的基因克隆和鉴定工作开展得较早, 发现的人类功能基因的数目虽然不是很多, 但是有许多高质量的工作, 17 篇文章(26.98%)引用次数超过 20 次, 18 篇文章(28.57%)影响因子 IF 超过 5。其中, 香港中文大学于 2003 年对于人源睾丸发育基因 *NYD-SP27*^[10] 的研究发表在 *Lancet* 杂志上(IF 为 33.633), 是迄今为止中国首次报道克隆和鉴定人类功能基因所发表的影响因子最高的杂志。该基因在胰腺导管细胞中内源性表达, 但在遗传性胰腺病囊性纤维化细胞中上调表达, 这表明该基因可能参与该病变的发生, 同时该位点可能成为新的潜在药物靶标。台湾长庚大学医学院鉴定了一个在上皮细胞间桥粒的形成和成熟过程中起重要作用的基因 *PNN*^[163]。台湾中央研究院分子生物学研究所发现的一个在前体 mRNA 可变剪接中有重要作用的 *RBM4B*^[164]。台湾科学院医学研究所鉴定的 *CENPJ*, 被认定在细胞分裂和中心体功能上有重要作用^[165]。台湾阳明大学研究人员发现了一个与有丝分裂中核仁的发生有关的基因 *NOLCI*^[166]。香港大学医学院克隆鉴定的 *EEN* 是在 19 号染色体短臂上发现的基因, 与染色体易位基因 *MLL* 融合导致人类白血病的发

生^[167], 之后他们又发现一个新的能与 *EEN* 结合的 *SH3D19*, 它可以抑制 Ras 信号通路, 并使 *MLL-EEN* 融合蛋白结合重新入核, 被认为在白血病发病中有重要作用^[168]。另外, 香港理工大学在人类 5 号染色体短臂上发现一个候选的癌基因 *FAM-134B*, 它在食道鳞状细胞癌中高表达, 同时在 NIH3T3 和 HEK293 细胞中高表达 *FAM134B* 可以促进细胞的生长^[169]。

其实, 中国克隆和鉴定人类功能基因研究走过的历程正反映了中国生命科学的发展与进步。从最初的基因序列测定, 基因在染色体上的定位, 到各类 cDNA 文库的建立, 大规模的 cDNA 序列分析, 再到单个基因进行分子水平、细胞水平、动物活体水平的功能研究; 从最初的低水平刊物, 到现在的国际一流杂志, 都是中国生命科学研究从弱到强, 不断发展壮大, 乃至赶超国际先进水平的标志。

中国首先克隆和鉴定人类功能基因的数量, 无论是以人类基因组估计的基因总数 4 万作为参照, 还是以编码蛋白基因总数 3 万左右或者已经克隆鉴定的基因数目 1 万 7 千左右为标准, 中国的科研工作者克隆的 589 个基因和授权的 159 条专利, 都完成了“863”计划生物领域专家委员会提出的克隆鉴定人类功能基因“百分之一”的目标。它是中国继完成人类基因组测序“百分之一”任务后, 在基因组研究领域取得的又一重大进展。

但也应该看到中国在人类功能基因研究领域仍然存在一些局限, 克隆鉴定的重要功能基因少, 大多数基因停留在测序、定位、表达谱等工作上, 缺乏深入的功能研究, 大部分文章被他人引用率低。新基因专利方面, 中国企业参与较少, 大多数由高校完成, 科研经费过度依赖于国家拨款, 缺少企业大量资金的投入, 导致科技成果转化困难, 无法创造巨大的经济价值和良好的社会效应。因此, 中国在人类功能基因组研究领域应展开更加深入的研究, 发现新基因的重要功能, 并积极推进实际应用, 为中国生物医药产业的发展 and 人民的身体健康作出更大贡献。

本文检索和分析的 544 篇文献和 159 条授权专利难免存在遗漏, 今后会继续关注并及时更新数据库 (<http://gene.fudan.sh.cn/introduction/database/chinagen/chinagene.html>), 希望各位读者可以提出宝贵意见并予以批评指正。

致谢 仅将本文献给为中国人类功能基因组学的起步和发展做出杰出贡献的、中国遗传学先驱——谈家桢先生。

参考文献

- 1 Robertso H D, Barrell B G, Weith H L, et al. Isolation and sequence analysis of a ribosome-protected fragment from bacteriophage phi-X 174 DNA. *Nat New Biol*, 1973, 241: 38–40
- 2 Ziff E B, Sedat J W, Galibert F. Determination of the nucleotide sequence of a fragment of bacteriophage phi-X 174 DNA. *Nat New Biol*, 1973, 241: 34–37
- 3 Sanger F, Air G M, Barrell B G, et al. Nucleotide sequence of bacteriophage phi-X 174 DNA. *Nature*, 1977, 265: 687–695
- 4 Gibbs R A, Belmont J W, Hardenbol P, et al. The International HapMap Project. *Nature*, 2003, 426: 789–796
- 5 Martial J A, Hallewell R A, Baxter J D, et al. Human growth hormone: complementary DNA cloning and expression in bacteria. *Science*, 1979, 205: 602–607
- 6 Blattner F R, Blechl A E, Denniston T K, et al. Cloning human fetal gamma globin and mouse alpha-type globin DNA: preparation and screening of shotgun collections. *Science*, 1978, 202: 1279–1284
- 7 Chang C Y, Wu D A, Mohandas T K, et al. Structure, sequence, chromosomal location, and evolution of the human ferredoxin gene family. *DNA Cell Biol*, 1990, 9: 205–212
- 8 Zhang M L, Wang L F, Miao S Y, et al. Isolation and sequencing of the cDNA encoding the 75-kD human sperm protein related to infertility. *Chin Med J(Engl)*, 1992, 105: 998–1003
- 9 Lander E S, Linton L M, Birren B, et al. International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 2001, 409: 860–921
- 10 Zhu H, Zhu J X, Lo P S, et al. Rescue of defective pancreatic secretion in cystic-fibrosis cells by suppression of a novel isoform of phospholipase C. *Lancet*, 2003, 362: 2059–2065
- 11 Tian C, Xing G, He F, et al. KRAB-type zinc-finger protein Apak specifically regulates p53-dependent apoptosis. *Nat Cell Biol*, 2009, 11: 580–591
- 12 Yuan J, Ma J, Ma D, et al. Overexpression of OLC1, cigarette smoke, and human lung tumorigenesis. *J Natl Cancer Inst*, 2008, 100: 1592–1605
- 13 Liao C, Zhao M, Song H, et al. Identification of the gene for a novel liver-related putative tumor suppressor at a high-frequency loss of heterozygosity region of chromosome 8p23 in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2000, 32: 721–727
- 14 Xu Z G, Du J J, Han Z G, et al. A novel liver-specific zona pellucida domain containing protein that is expressed rarely in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2003, 38: 735–744
- 15 Ma N F, Hu L, Fung J M, et al. Isolation and characterization of a novel oncogene, amplified in liver cancer 1, within a commonly amplified region at 1q21 in hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2008, 47: 503–510
- 16 Wan T, Zhou X, Cao X, et al. Novel heat shock protein Hsp70L1 activates dendritic cells and acts as a Th1 polarizing adjuvant. *Blood*, 2004, 103: 1747–1754
- 17 Han Y, Zhang M, Cao X, et al. KLRL1, a novel killer cell lectinlike receptor, inhibits natural killer cell cytotoxicity. *Blood*, 2004, 104: 2858–2866
- 18 Liu Y J, Lu S H, Han Z C, et al. Hemangiopoietin, a novel human growth factor for the primitive cells of both hematopoietic and endothelial cell lineages. *Blood*, 2004, 103: 4449–4456
- 19 Chen Z, Brand N J, Chen A, et al. Fusion between a novel Krüppel-like zinc finger gene and the retinoic acid receptor-alpha locus due to a variant t(11; 17) translocation associated with acute promyelocytic leukaemia. *EMBO J*, 1993, 12: 1161–1167
- 20 Huang J, Liu T, Shu H B, et al. SIKE is an IKK epsilon/TBK1-associated suppressor of TLR3- and virus-triggered IRF-3 activation pathways. *EMBO J*, 2005, 24: 4018–4028
- 21 Zhang Y, Zhang H, Shang Y, et al. SIP, a novel ankyrin repeat containing protein, sequesters steroid receptor coactivators in the cytoplasm. *EMBO J*, 2007, 26: 2645–2657
- 22 Qu X, Zhai Y, He F, et al. Characterization and expression of three novel differentiation-related genes belong to the human NDRG gene family. *Mol Cell Biochem*, 2002, 229: 35–44
- 23 Liu H T, Wang Y G, Zhang Y M, et al. TFAR19, a novel apoptosis-related gene cloned from human leukemia cell line TF-1, could enhance apoptosis of some tumor cells induced by growth factor withdrawal. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 254: 203–210
- 24 Carbon S, Ireland A, Mungall C J, et al. AmiGO: online access to ontology and annotation data. *Bioinformatics*, 2009, 25: 288–289

- 25 Mao Y M, Xie Y. US Patent, 7273724, 2001-05-31
- 26 Mao Y M, Xie Y. US Patent, 7056719, 2002-04-04
- 27 Mao Y M, Xie Y. US Patent, 7049404, 2002-04-04
- 28 Mao Y M, Xie Y. US Patent, 6994996, 2001-05-03
- 29 Mao Y M, Xie Y. US Patent, 6984509, 2001-05-03
- 30 Mao Y M, Xie Y. US Patent, 6919431, 2001-05-31
- 31 Mao Y M, Xie Y. US Patent, 6919430, 2001-05-03
- 32 Mao Y M, Xie Y. US Patent, 6919427, 2001-05-03
- 33 Mao Y M, Xie Y. US Patent, 6908765, 2001-05-31
- 34 Mao Y M, Xie Y. US Patent, 6844323, 2001-06-28
- 35 Mao Y M, Xie Y. US Patent, 6811987, 2001-05-31
- 36 Mao Y M, Sheng X Y, Yuan Y Z, et al. US Patent, 6649390, 2001-05-31
- 37 Yu L, Zhao Y, Hu P R, et al. US Patent, 6943244, 2002-09-12
- 38 Yu L, Zhao Y, Zhang H L, et al. US Patent, 6893844, 2000-03-30
- 39 Yu L, Zhao Y, Zhang H L, et al. US Patent, 6743617, 2000-03-09
- 40 Yu L, Zhao Y, Zhang H L, et al. US Patent, 6660512, 2000-03-09
- 41 Yu L, Fu Q, Hu P R, et al. US Patent, 6656708, 2000-03-30
- 42 Yu L, Zhao Y, Hu P R, et al. US Patent, 6528297, 2001-03-09
- 43 Yu L, Zhao Y, Hu P R, et al. US Patent, 6436688, 2000-03-09
- 44 Zhao X T, Wan D F, Gu J R. US Patent, 7112419, 2001-11-15
- 45 Gu J R, Yang S L. US Patent, 7037683, 2003-03-14
- 46 Ma D L, Han W L, Huang J Q, et al. US Patent, 6800454, 2001-03-07
- 47 Ma D L, Han W L, Huang J Q, et al. US Patent, 7365171, 2004-06-02
- 48 Zhao M J, Liu Z W, Qiu J, et al. US Patent, 7741468, 2004-07-22
- 49 Xiong S Q, Chang Z J. US Patent, 7141390, 2003-06-30
- 50 Yu L, Zhang H L, Fu Q, et al. EP Patent, 1116792, 2007-01-24
- 51 Yu L, Zhang H L, Fu Q, et al. EP Patent, 1111059, 2009-07-01
- 52 Yu L, Zhang H L, Fu Q, et al. EP Patent, 1111054, 2009-06-27
- 53 Yu L, Zhang H L, Fu Q, et al. CA Patent, 2343719, 2000-03-30
- 54 Yu L, Zhang H L, Fu Q, et al. CA Patent, 2343715, 2000-03-30
- 55 Hu Q D, Lu H, Li Y Y, et al. A human homolog of the yeast gene encoding tRNA 2'-phosphotransferase: cloning, characterization and complementation analysis. *Cell Mol Life Sci*, 2003, 60: 1725–1732
- 56 Lin S, McLennan A G, Mao Y, et al. Cloning, expression, and characterization of a human inosine triphosphate pyrophosphatase encoded by the itpa gene. *J Biol Chem*, 2001, 276: 18695–18701
- 57 Zheng L, Yu L, Tu Q, et al. Cloning and mapping of human PKIB and PKIG, and comparison of tissue expression patterns of three members of the protein kinase inhibitor family, including PKIA. *Biochem J*, 2000, 349: 403–407
- 58 Tu Q, Yu L, Zhang P, et al. Cloning, characterization and mapping of the human ATP5E gene, identification of pseudogene ATP5EP1, and definition of the ATP5E motif. *Biochem J*, 2000, 347: 17–21
- 59 Chen J, Yu L, Li D, et al. Human CRYL1, a novel enzyme-crystallin overexpressed in liver and kidney and downregulated in 58% of liver cancer tissues from 60 Chinese patients, and four new homologs from other mammals. *Gene*, 2003, 302: 103–113
- 60 He H, Dai F, Yu L, et al. Identification and characterization of nine novel human small GTPases showing variable expression in liver cancer tissues. *Gene Expr*, 2002, 10: 231–242
- 61 Wu X, Jia H L, Wang Y F, et al. HTPAP gene on chromosome 8p is a candidate metastasis suppressor for human hepatocellular carcinoma. *Oncogene*, 2006, 25: 1832–1840
- 62 He H, Dang Y J, Dai F Y, et al. Post-translational modifications of three members of the human MAP1LC3 family and detection of a novel type of modification for MAP1LC3B. *J Biol Chem*, 2003, 278: 29278–29287
- 63 Xu J, He T, Wang L, et al. Molecular cloning and characterization of a novel human BTBD8 gene containing double BTB/POZ domains. *Int J Mol Med*, 2004, 13: 193–197
- 64 Zhang Z, Wu C, Huang W, et al. A novel human gene whose product shares homology with bovine brain-specific protein p25 is expressed

- in fetal brain but not in adult brain. *J Hum Genet*, 2002, 47: 266–268
- 65 Zou X Q, Wang D Z, Qiu G Z, et al. Molecular cloning and characterization of a novel human *C4orf13* gene, tentatively a member of the sodium bile acid cotransporter family. *Biochem Genet*, 2005, 43: 165–173
- 66 Ye X, Ji C, Yin G, et al. Characterization of a human Sec14-like protein cDNA SEC14L3 highly homologous to human SPF/TAP. *Mol Biol Rep*, 2004, 31: 59–63
- 67 Zhou G J, Wang J, Zhang Y, et al. Cloning, expression and subcellular localization of HN1 and HN1L genes, as well as characterization of their orthologs, defining an evolutionarily conserved gene family. *Gene*, 2004, 331: 115–123
- 68 Liu L L, Zhang J X, Yuan J, et al. Characterization of a human regulatory subunit of protein phosphatase 3 gene (*PPP3RL*) expressed specifically in testis. *Mol Biol Rep*, 2005, 32: 41–45
- 69 Zhao W, Tang R, Huang Y, et al. Cloning and expression pattern of the human *NDRG3* gene. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1519: 134–138
- 70 余龙, 傅强, 赵勇, 等. 中国专利, 99810036, 1999-08-30
- 71 余龙, 傅强, 赵勇, 等. 中国专利, 99810037, 1999-08-30
- 72 余龙, 傅强, 赵勇, 等. 中国专利, 99810038, 1999-08-30
- 73 余龙, 赵勇, 傅强, 等. 中国专利, 99102449, 1999-02-26
- 74 Yu M, Tong J H, Mao M, et al. Cloning of a gene (RIG-G) associated with retinoic acid-induced differentiation of acute promyelocytic leukemia cells and representing a new member of a family of interferon-stimulated genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 7406–7411
- 75 Mao M, Yu M, Tong J H, et al. RIG-E, a human homolog of the murine Ly-6 family, is induced by retinoic acid during the differentiation of acute promyelocytic leukemia cell. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 5910–5914
- 76 Xu J, Ni M, Wan F, et al. The ATF/CREB site is the key element for transcription of the human RNA methyltransferase like 1 (*RNMTL1*) gene, a newly discovered 17p13.3 gene. *Cell Res*, 2002, 12: 177–197
- 77 Qin W X, Wan F, Sun F Y, et al. Cloning and characterization of a novel gene (*C17orf25*) from the deletion region on chromosome 17p13.3 in hepatocellular carcinoma. *Cell Res*, 2001, 11: 209–216
- 78 Zhao X, Li J, Gu J, et al. A novel growth suppressor gene on chromosome 17p13.3 with a high frequency of mutation in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*, 2001, 61: 7383–7387
- 79 万大方, 顾健人, 杨胜利. 中国专利, 200310109398, 2003-12-15
- 80 顾健人, 万大方. 中国专利, 200310109301, 2003-12-12
- 81 顾健人, 杨胜利, 覃文新. 中国专利, 02151030, 2002-12-04
- 82 Han Z G, Zhang Q H, Chen Z, et al. Molecular cloning of six novel Krüppel-like zinc finger genes from hematopoietic cells and identification of a novel transregulatory domain KRNB. *J Biol Chem*, 1999, 274: 35741–35748
- 83 Pan W, Zhang Q, Xi Q S, et al. FUP1, a gene associated with hepatocellular carcinoma, stimulates NIH3T3 cell proliferation and tumor formation in nude mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 286: 1033–1038
- 84 Huang R, Xing Z, Luan Z, et al. A specific splicing variant of SVH, a novel human armadillo repeat protein, is up-regulated in hepatocellular carcinomas. *Cancer Res*, 2003, 63: 3775–3782
- 85 Xu Z, Liang L, Wang H, et al. HCRP1, a novel gene that is downregulated in hepatocellular carcinoma, encodes a growth-inhibitory protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 311: 1057–1066
- 86 Liu Q, Hamil K G, Rao A J, et al. Characterization of ESC42, a novel protein containing a trefoil-like motif in monkey and human. *Endocrinology*, 2001, 142: 4529–4539
- 87 Zhang D H, Zhou B, Huang Y, et al. The human Pif1 helicase, a potential *Escherichia coli* RecD homologue, inhibits telomerase activity. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34: 1393–1404
- 88 Liang L, Zhao M, Xu Z, et al. Molecular cloning and characterization of CIDE-3, a novel member of the cell-death-inducing DNA-fragmentation-factor (DFF45)-like effector family. *Biochem J*, 2003, 370: 195–203
- 89 赵慕钧, 刘占武, 李载平. 中国专利, 01105282, 2001-01-22
- 90 赵慕钧, 廖成, 李载平. 中国专利, 00115395, 2000-04-14
- 91 赵慕钧, 徐振华, 梁亮, 等. 中国专利, 03116920, 2003-05-14
- 92 Zhang W, Wan T, Li N, et al. Genetic approach to insight into the immunobiology of human dendritic cells and identification of CD84-H1, a novel CD84 homologue. *Clin Cancer Res*, 2001, 7: 822s–829s
- 93 Cao X, Zhang W, Wan T, et al. Molecular cloning and characterization of a novel CXC chemokine macrophage inflammatory protein-2 gamma chemoattractant for human neutrophils and dendritic cells. *J Immunol.*, 2000, 165: 2588–2595
- 94 Li N, Zhang W, Wan T, et al. Cloning and characterization of Siglec-10, a novel sialic acid binding member of the Ig superfamily, from

- human dendritic cells. *J Biol Chem*, 2001, 276: 28106–28112
- 95 Zhang W, Chen T, Cao X, et al. Cloning of DPK, a novel dendritic cell-derived protein kinase activating the ERK1/ERK2 and JNK/SAPK pathways. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 274: 872–879
- 96 Zhang W, Mi J, Cao X, et al. Identification and characterization of DPZF, a novel human BTB/POZ zinc finger protein sharing homology to BCL-6. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 282: 1067–1073
- 97 Wang C, Li N, Cao X, et al. A novel endogenous human CaMKII inhibitory protein suppresses tumor growth by inducing cell cycle arrest via p27 stabilization. *J Biol Chem*, 2008, 283: 11565–11574
- 98 Wang X, Liu B, Cao X, et al. IPP5, a novel protein inhibitor of protein phosphatase 1, promotes G1/S progression in a Thr-40-dependent manner. *J Biol Chem*, 2008, 283: 12076–12084
- 99 Chen J, Xu J, Ying K, et al. Molecular cloning and characterization of a novel human BTB domain-containing gene, BTBD10, which is down-regulated in glioma. *Gene*, 2004, 340: 61–69
- 100 Chen J, Lu Y, Xu J, et al. Identification and characterization of NBEAL1, a novel human neurobeachin-like 1 protein gene from fetal brain, which is up regulated in glioma. *Brain Res Mol Brain Res*, 2004, 125: 147–155
- 101 曹雪涛, 章卫平, 万涛, 等. 中国专利, 99124272, 1999-12-16
- 102 曹雪涛, 章卫平, 万涛, 等. 中国专利, 99127033, 1999-12-29
- 103 Han W, Lou Y, Tang J, et al. Molecular cloning and characterization of chemokine-like factor 1 (CKLF), a novel human cytokine with unique structure and potential chemotactic activity. *Biochem J*, 2001, 357: 127–135
- 104 Han W, Ding P, Xu M, et al. Identification of eight genes encoding chemokine-like factor superfamily members 1-8 (CKLFSF1-8) by in silico cloning and experimental validation. *Genomics*, 2003, 81: 609–617
- 105 Wu M, Xu L G, Shu H B, et al. AMID, an apoptosis-inducing factor-homologous mitochondrion-associated protein, induces caspase-independent apoptosis. *J Biol Chem*, 2002, 277: 25617–25623
- 106 Chen D, Li X, Shu H B, et al. A novel zinc finger protein interacts with receptor-interacting protein (RIP) and inhibits tumor necrosis factor (TNF)- and IL1-induced NF-kappa B activation. *J Biol Chem*, 2002, 277: 15985–15991
- 107 Wu M, Xu L G, Shu H B, et al. SINK is a p65-interacting negative regulator of NF-kappaB-dependent transcription. *J Biol Chem*, 2003, 278: 27072–27079
- 108 Xu X, Li W, Fan X, et al. Identification and characterization of a novel *p42.3* gene as tumor-specific and mitosis phase-dependent expression in gastric cancer. *Oncogene*, 2007, 26: 7371–7379
- 109 韩文玲, 马大龙, 丁培国, 等. 中国专利, 02122266, 2002-06-03
- 110 马大龙, 韩文玲, 张颖妹, 等. 中国专利, 00807234, 2000-02-15
- 111 王露, 马大龙, 韩文玲, 等. 中国专利, 00121027, 2000-07-13
- 112 Wang Y, Han K J, Chen W F, et al. Large scale identification of human hepatocellular carcinoma-associated antigens by autoantibodies. *J Immunol*, 2002, 169: 1102–1109
- 113 Li R, Zhang H, Shang Y, et al. ZIP: a novel transcription repressor, represses EGFR oncogene and suppresses breast carcinogenesis. *EMBO J*, 2009, 28: 2763–2776
- 114 Li Y, Dong X, Yin Y, et al. BJ-TSA-9, a novel human tumor-specific gene, has potential as a biomarker of lung cancer. *Neoplasia*, 2005, 7: 1073–1080
- 115 Shao G Z, Zhou R L, Zhang Q Y, et al. Molecular cloning and characterization of *LAPTM4B*, a novel gene upregulated in hepatocellular carcinoma. *Oncogene*, 2003, 22: 5060–5069
- 116 Zhang X, Liu H, Zhang Y, et al. A novel gene, RSD-3/HSD-3.1, encodes a meiotic-related protein expressed in rat and human testis. *J Mol Med(Berl)*. 2003, 81: 380–387
- 117 Wang L F, Miao S Y, Zong S D, et al. Gene encoding a mammalian epididymal protein. *Biochem Mol Biol Int*, 1994, 34: 1131–1136
- 118 Zou S W, Zhang J C, Wang L F, et al. Expression and localization of VCX/Y proteins and their possible involvement in regulation of ribosome assembly during spermatogenesis. *Cell Res*, 2003, 13: 171–177
- 119 Wang L F, Zhu H D, Miao S Y, et al. Molecular cloning and characterization of a novel testis-specific nucleoporin-related gene. *Arch Androl*, 1999, 42: 71–84
- 120 Cai Y, Gao Y, Sheng Q, et al. Characterization and potential function of a novel testis-specific nucleoporin BS-63. *Mol Reprod Dev*, 2002, 61: 126–134
- 121 Lu J, Hu G, Wang X, et al. Cloning and characterization of a novel gene *EC97* associated with human esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Mol Med*, 2003, 11: 243–247

- 122 Wang Q, Yang C, Zhou J, et al. Cloning and characterization of full-length human ribosomal protein L15 cDNA which was overexpressed in esophageal cancer. *Gene*, 2001, 263: 205–209
- 123 Cui Y, Wang J, Zhang X, et al. ECRG2, a novel candidate of tumor suppressor gene in the esophageal carcinoma, interacts directly with metallothionein 2A and links to apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 302: 904–915
- 124 Bi M X, Han W D, Lu S X. Using lab on-line to clone and identify the esophageal cancer related gene 4. *Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Wu Li Xue Bao (Shanghai)*, 2001, 33: 257–261
- 125 刘芝华, 周津, 丁芳, 等. 中国专利, 02141991, 2002-09-02
- 126 陆士新. 中国专利, 02143175, 2002-09-16
- 127 王明荣, 许智雄, 蔡岩, 等. 中国专利, 99117524, 1999-08-10
- 128 王明荣, 许智雄, 蔡岩, 等. 中国专利, 99117523, 1999-08-10
- 129 Zhang Q, Meng Y, Zhu D, et al. RNF13: a novel RING-type ubiquitin ligase over-expressed in pancreatic cancer. *Cell Res*, 2009, 19: 348–357
- 130 Peng H, Du Z W, Zhang J W. Identification and characterization of a novel zinc finger protein (*HZFI*) gene and its function in erythroid and megakaryocytic differentiation of K562 cells. *Leukemia*, 2006, 20: 1109–1116
- 131 Wang Y, Guan X, Wang L, et al. A novel member of the Rhomboid family, RHBDD1, regulates BIK-mediated apoptosis. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65: 3822–3829
- 132 Lin W, Zhou X F, Zhang M L, et al. Cloning, expression and characterization of a cDNA (6A8) encoding a novel human alpha-mannosidase. *Eur J Biochem*, 2000, 267: 7176–7183
- 133 Wang Z, Wei H, He F, et al. Characterization of Ceap-11 and Ceap-16, two novel splicing-variant-proteins, associated with centrosome, microtubule aggregation and cell proliferation. *J Mol Biol*, 2004, 343: 71–82
- 134 Qu X, Wei H, He F, et al. Identification, characterization, and functional study of the two novel human members of the semaphorin gene family. *J Biol Chem*, 2002, 277: 35574–35585
- 135 Zhang C, Wang C, He F, et al. Full-length cDNA cloning of human neuroglobin and tissue expression of rat neuroglobin. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 290: 1411–1419
- 136 Zhang L, Xing G, He F, et al. Role for the pleckstrin homology domain-containing protein CKIP-1 in AP-1 regulation and apoptosis. *EMBO J*, 2005, 24: 766–778
- 137 Li L, Deng B, He F, et al. PACT is a negative regulator of p53 and essential for cell growth and embryonic development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 7951–7956
- 138 Zhang C, Yu Y, He F, et al. Characterization, chromosomal assignment, and tissue expression of a novel human gene belonging to the ARF GAP family. *Genomics*, 2000, 63: 400–408
- 139 Zhang P J, Zhao J, Zhang X M, et al. CUE domain containing 2 regulates degradation of progesterone receptor by ubiquitin-proteasome. *EMBO J*, 2007, 26: 1831–1842
- 140 Cao Q, Chen J, Zhu L, et al. A testis-specific and testis developmentally regulated tumor protein D52 (TPD52)-like protein TPD52L3/hD55 interacts with TPD52 family proteins. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 344: 798–806
- 141 Xu M, Xiao J, Chen J, et al. Identification and characterization of a novel human testis-specific Golgi protein, NYD-SP12. *Mol Hum Reprod*, 2003, 9: 9–17
- 142 Zheng Y, Zhang J, Wang L, et al. Cloning and characterization of a novel sperm tail protein, NYD-SP28. *Int J Mol Med*, 2006, 18: 1119–1125
- 143 Wang H, Zhou Z, Lu L, et al. Cloning and characterization of a novel intronless lactate dehydrogenase gene in human testis. *Int J Mol Med*, 2005, 15: 949–953
- 144 Yin L L, Li J M, Zhou Z M, et al. Identification of a novel testis-specific gene and its potential roles in testis development/spermatogenesis. *Asian J Androl*, 2005, 7: 127–137
- 145 Zheng Y, Zhou Z M, Min X, et al. Identification and characterization of the BGR-like gene with a potential role in human testicular development/spermatogenesis. *Asian J Androl*, 2005, 7: 21–32
- 146 Xiao J, Xu M, Li J, et al. NYD-SP6, a novel gene potentially involved in regulating testicular development/spermatogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 291: 101–110
- 147 Cheng L J, Li J M, Chen J, et al. NYD-SP16, a novel gene associated with spermatogenesis of human testis. *Biol Reprod*, 2003, 68: 190–198
- 148 Li Z, Yao K, Cao Y. Molecular cloning of a novel tissue-specific gene from human nasopharyngeal epithelium. *Gene*, 1999, 237: 235–240

- 149 Nie X, Zhang B, Li X, et al. Cloning, expression, and mutation analysis of NOR1, a novel human gene down-regulated in HNE1 nasopharyngeal carcinoma cell line. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2003, 129: 410–414
- 150 Li Y, Chen Z. Molecular cloning and characterization of *LCRG1* a novel gene localized to the tumor suppressor locus D17S800-D17S930. *Cancer Lett*, 2004, 209: 75–85
- 151 LI Z H, Cao L, Xiang J J, et al. Expression of tumor related gene NAG6 in gastric cancer and restriction fragment length polymorphism analysis. *World J Gastroenterol*, 2004, 10: 1361–1364
- 152 Zhang Q, Wang J, Li G, et al. Expression and functional characterization of LRRC4, a novel brain-specific member of the LRR superfamily. *FEBS Lett*, 2005, 579: 3674–3682
- 153 Dan L, Li F Y, Guang X L. Molecular cloning and expression analysis of a novel human testis-specific gene. *Yi Chuan Xue Bao*, 2004, 31: 545–551
- 154 Liu S F, Li L Y, Fu J J, et al. Rapid identification of human testis spermatocyte apoptosis- related gene, TSARG2, by nested PCR and draft human genome searching. *Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Wu Li Xue Bao (Shanghai)*, 2002, 34: 378–382
- 155 Liu G, Lu G, Fu J, et al. Molecular cloning of TSARG3 gene related to apoptosis in human spermatogenic cells. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*, 2003, 20: 107–110
- 156 Qi X, Li Y, Xiao J, et al. Activation of transcriptional activities of AP-1 and SRE by a new zinc-finger protein ZNF641. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 339: 1155–1164
- 157 Cheng Y, Wang Y, Li Y, et al. A novel human gene ZNF415 with five isoforms inhibits AP-1- and p53-mediated transcriptional activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 351: 33–39
- 158 Zhao Y, Zhou L, Liu B, et al. ZNF325, a novel human zinc finger protein with a RBaK-like RB-binding domain, inhibits AP-1- and SRE-mediated transcriptional activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 346: 1191–1199
- 159 Huang X, Yuan W, Huang W, et al. ZNF569, a novel KRAB-containing zinc finger protein, suppresses MAPK signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 346: 621–628
- 160 Xiang Z, Yuan W, Luo N, et al. A novel human zinc finger protein ZNF540 interacts with MVP and inhibits transcriptional activities of the ERK signal pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 347: 288–296
- 161 Liu F, Zhu C, Xiao J, et al. A novel human KRAB-containing zinc-finger gene ZNF446 inhibits transcriptional activities of SRE and AP-1. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 333: 5–13
- 162 Yang H, Yuan W, Wang Y, et al. ZNF649, a novel Kruppel type zinc-finger protein, functions as a transcriptional suppressor. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 333: 206–215
- 163 Ouyang P and Sugrue, S P. Characterization of pinin, a novel protein associated with the desmosome-intermediate filament complex. *J Cell Biol*, 1996, 135: 1027–1042
- 164 Lai M C, Kuo H W, Chang W C, et al. A novel splicing regulator shares a nuclear import pathway with SR proteins. *EMBO J*, 2003, 22: 1359–1369
- 165 Hung L Y, Tang C J, Tang T K. Protein 4.1 R-135 interacts with a novel centrosomal protein (CPAP) which is associated with the gamma-tubulin complex. *Mol Cell Bio*, 2000, 20: 7813–7825
- 166 Pai C Y, Chen H K, Sheu H L, et al. Cell-cycle-dependent alterations of a highly phosphorylated nucleolar protein p130 are associated with nucleogenesis. *J Cell Sci*, 1995, 108: 1911–1920
- 167 So C W, Caldas C, Liu M M, et al. EEN encodes for a member of a new family of proteins containing an Src homology 3 domain and is the third gene located on chromosome 19p13 that fuses to MLL in human leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94: 2563–2568
- 168 Yam J W, Jin D Y, So C W, et al. Identification and characterization of EBP, a novel EEN binding protein that inhibits Ras signaling and is recruited into the nucleus by the MLL-EEN fusion protein. *Blood*, 2004, 103: 1445–1453
- 169 Tang W K, Chui C H, Fatima S, et al. Oncogenic properties of a novel gene JK-1 located in chromosome 5p and its overexpression in human esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Mol Med*, 2007, 19: 915–923