

树鼩 *IL-2* 全长编码序列的克隆及分子特征分析

黄晓燕¹, 李明利², 徐娟¹, 高跃东^{3,4}, 王文广¹, 殷安国¹, 李晓飞¹, 孙晓梅¹,
夏雪山⁵, 代解杰^{1,*}

1. 中国医学科学院/北京协和医学院 医学生物学研究所 树鼩种质资源中心 云南省重大传染病疫苗研发重点实验室, 云南 昆明 650118;
2. 中国科学院昆明动物研究所 动物模型与人类疾病机理重点实验室: 免疫生物学实验室, 云南 昆明 650223;
3. 中国科学院昆明生物多样性大型仪器区域中心, 云南 昆明 650223;
4. 中国科学院昆明动物研究所 遗传资源与进化国家重点实验室, 云南 昆明 650223;
5. 昆明理工大学 生命科学与技术学院, 云南 昆明 650500

摘要: 树鼩作为多种人类疾病模型已受到广泛关注, 而免疫因子对于树鼩模型评价至关重要, 但目前对其白细胞介素-2(IL-2)的研究鲜有报道。该实验以经 ConA (concanavalin) 诱导培养的树鼩淋巴细胞总 RNA 为模板, RT-PCR 克隆出 465 bp 的树鼩 *IL-2* 全长编码序列, 并采用 Clustal W 软件分析其序列和分子特征。结果表明树鼩 *IL-2* cDNA 编码一个由 154 个氨基酸组成的蛋白质, 其 cDNA 及氨基酸序列与人的同源性分别为 93% 及 80%, 且其整体结构与人类 *IL-2* 相似。MEGA5.0 软件构建的进化树表明, 树鼩与人及恒河猴的亲缘关系较近。Pymol 软件对树鼩和人类 *IL-2* 氨基酸序列进行的三维结构模建表明, 两者的 *IL-2* 分子三维空间结构基本相似, 表面大部分区域所带电荷相同, 但在某些区域差异较大, 且树鼩多出一个糖基化位点, 这些差异对抗体的结合可能存在影响。该研究为今后树鼩 *IL-2* 单克隆抗体的制备及功能研究奠定了基础。

关键词: 树鼩; *IL-2*; 克隆; 结构; 功能

中图分类号: Q95-33 **文献标志码:** A **文章编号:** 0254-5853-(2013)02-0121-06

Analysis of the molecular characteristics and cloning of full-length coding sequence of *Interleukin-2* in tree shrews

Xiao-Yan HUANG¹, Ming-Li LI², Juan XU¹, Yue-Dong GAO^{3,4}, Wen-Guang WANG¹,
An-Guo YIN¹, Xiao-Fei LI¹, Xiao-Mei SUN¹, Xue-Shan XIA⁵, Jie-Jie DAI^{1,*}

1. Center of Tree Shrew Germplasm Resources, Institute of Medical Biology, the Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Yunnan Key Laboratory of Vaccine Research and Development on Severe Infectious Diseases, Kunming 650118, China;
2. Immunobiology Laboratory, Key Laboratory of Animal Models and Human Disease Mechanisms, Kunming Institute of Zoology, the Chinese Academy of Science, Kunming 650223, China;
3. Kunming Biological Diversity Regional Center of Large Apparatus and Equipment, the Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China;
4. State Key Laboratory of Genetic Resources and Evolution, Kunming Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China;
5. Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China

Abstract: While the tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*) is an excellent animal model for studying the mechanisms of human diseases, but few studies examine interleukin-2 (IL-2), an important immune factor in disease model evaluation. In this study, a 465 bp of the full-length *IL-2* cDNA encoding sequence was cloned from the RNA of tree shrew spleen lymphocytes, which were then cultivated and stimulated with ConA (concanavalin). Clustal W 2.0 was used to compare and analyze the sequence and molecular characteristics, and establish the similarity of the overall structure of IL-2 between tree shrews and other mammals. The homology of the *IL-2* nucleotide sequence between tree shrews and humans was 93%, and the amino acid homology was 80%. The phylogenetic tree results, derived through the Neighbour-Joining method using MEGA5.0, indicated a close genetic relationship between tree shrews, *Homo sapiens*, and *Macaca mulatta*. The three-dimensional structure analysis showed that the surface charges in most regions

收稿日期: 2012-12-03; 接受日期: 2013-01-04

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2009BAI83B02-21; 2011BAI15B01-21; 2012BAI39B01); 云南省科技计划重点项目(2006PT07-2); 云南省应用基础上项目(2011FZ211)。

*通信作者(Corresponding author), E-mail: dj@imbcams.com.cn

第一作者简介: 黄晓燕, 女, 硕士研究生。研究方向: 人类疾病动物模型的建立

of tree shrew IL-2 were similar to between tree shrews and humans; however, the N-glycosylation sites and local structures were different, which may affect antibody binding. These results provide a fundamental basis for the future study of IL-2 monoclonal antibody in tree shrews, thereby improving their utility as a model.

Keywords: Tree shrews; Interleukin 2; Cloning; Structure; Function

白细胞介素-2 (Interleukin-2, IL-2) 为主要由激活淋巴细胞所产生的 Th1 型细胞因子, 能促进 T 细胞、NK 细胞及 B 细胞的分化成熟并激活其生物活性, 诱导淋巴因子激活杀伤细胞 (LAK), 并通过淋巴因子和天然杀伤细胞破坏肿瘤细胞, 以及促进诸多淋巴因子如干扰素及肿瘤坏死因子等的合成、释放及抗体生成, 增强机体免疫功能, 在抗肿瘤、抗毒素、免疫调节及感染性疾病的治疗等中具有重要作用 (Lenardo, 1991)。IL-2 还可作为免疫佐剂用于某些淋巴组织增生性疾病及癌症的治疗, 其拮抗剂可用于抑制器官移植排斥反应 (Theze, 1996; Church, 2003)。人 IL-2 由位于第 4 号染色体长臂上的单一非等位基因编码, 由 153 个氨基酸组成, 包括 20 个信号肽 (Gillis et al, 1979)。IL-2 与受体结合后发挥作用, 其受体由三种肽链 α 、 β 和 γ 参与构成 (Shanafelt, 2000)。IL-2R α 为低亲和力受体, 单独与 IL-2 结合后不参与信号转导。T 细胞表面表达由 α 、 β 、 γ 三聚体构成的高亲和力受体参与, NK 细胞表面表达由 β 、 γ 二聚体构成的中亲和力受体参与 (Voss, 1991), 只有当 IL-2 和 IL-2R β 及 IL-2R γ 结合后, 才能通过其胞浆区的异源二聚体和信号旁路的一系列激酶活化发挥有效的信号转导作用。该因子于 1976 年由 Morgan et al 报道, 并由 Taniguchi et al 于 1983 年首次克隆成功。在人类医学方面, 重组 IL-2 在提高免疫抗病机能、抗感染和治疗癌症等方面获得了广泛应用 (Zelus et al, 2000)。

树鼩 (*Tupaia belangeri*, tree shrew) 是生活在热带和亚热带地区的哺乳纲攀鼩类小型动物, 形态酷似松鼠 (Cao et al, 2003), 是灵长类动物的近亲 (Novacek, 1992; Nie, 2008)。由于树鼩体型小、易驯养、繁殖能力强且饲养管理成本低, 作为某些人类重大疾病研究的动物模型, 在医学实验中已被广泛应用。早在 1997 年, Wang et al 就发现树鼩可感染人 HCV。Zhao et al (2005) 用 HCV 感染树鼩原代培养肝细胞, 结果在细胞培养上清液检出 HCV RNA, 说明树鼩肝外可支持 HCV 复制。Amako et al (2010) 用 HCV 患者血清和 HCV 全长 cDNA 重组的病毒颗

粒感染树鼩, 经过长达 3 a 的观察发现, HCV 在树鼩体内可导致慢性肝炎、肝脂肪变性、肝纤维化、肝硬化结节及肿瘤发生等, 表明树鼩可作为模型动物用于研究丙型肝炎发病机制、预防治疗及新药研发。有研究表明, 在慢性及重型丙型肝炎感染者血清中 IL-2 水平明显上升, 且其上升幅度与病情轻重和病程长短密切相关 (Bozkaya, 2000; Fukuda, 1996; Napoli, 1996)。但目前对树鼩 IL-2 的研究尚属空白, 致使缺乏对树鼩动物模型免疫细胞因子方面的评价指标, 因此, 阐明树鼩 IL-2 分子结构和功能的关系, 是研究 IL-2 在丙型肝炎等疾病感染过程中免疫功能的前提。为此, 本研究以确定树鼩 IL-2 完整编码序列为目的, 对其进行分子特征分析, 为今后制备树鼩 IL-2 单克隆抗体及研究白细胞介素在丙型肝炎中的免疫调节机理奠定基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物

自繁 F1 代树鼩由中国医学科学院医学生物学研究所树鼩种质资源中心提供, 按实验动物使用的 3R 原则给予实验动物人道主义关怀。

1.2 树鼩 IL-2 cDNA 的分子克隆

由于树鼩 IL-2 基因分子序列未见报道, 我们首先根据取自 NCBI 数据库树鼩 2 倍覆盖率基因组预测序列 (BioProject Accession: PRJNA13971) 结合人 IL-2 编码区设计上、下游引物 (上游引物: 5'-ATGCACAAAATGCAACTCTTGTCTTG-3', 下游引物: 5'-TCAACTCAGTGTTGAAATGATGCTTTG-3')。

无菌采集树鼩外周血 2 mL, 用 Ficoll-PaqueTM PREMIUM (购自 GE Healthcare) 分离外周血淋巴细胞, 经 1640 完全培养基培养及 ConA 诱导 (1640 液、胎牛血清购自 TaKaRa) 后, 收集淋巴细胞, 提取细胞总 RNA (试剂盒购自 Thermo)。将其反转录为 cDNA (Revert Aid H Minus First strand cDNA synthesis Kit 购自 Thermo), 利用上述引物进行梯度 PCR (Dream Taq Green PCR Master Mix 购自 Thermo), 循环参数为: 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 61

℃ 30 s, 72 ℃ 45 s, 35 个循环; 72 ℃ 10 min。以树鼩管家基因 GAPDH(Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) 作为阳性对照, 其引物为 5'-CCATCACCATCTTCCAGGAGCGAG-3' 和 5'-CAAAGGTGGAGGAGTGGGTGTCG-3', 退火温度为 52 ℃。将胶回收后的 PCR 产物 (胶回收试剂盒购自 TIANGEN) 经 TA 克隆插入 pMD-19T 载体, 转化大肠杆菌 DH5a 感受态细胞, 提取质粒经 *Bam*H I 和 *Hind* III 双酶切鉴定后, 由 invitrogen 公司进行双向测序。

1.3 分子特征分析

本文用于参比的核酸序列均来源于 GenBank 数据库, 分别采用 DNA MAN 6.0 分析核酸序列、Clustal W 2.0 分析氨基酸序列和 MEGA 5.0 分析树

鼩与其他哺乳动物 *IL-2* 之间的亲缘关系, 蛋白质三维结构的模建和分析则通过 Discovery Studio 和 PyMOL 完成, 信号肽和糖基化位点等则采用在线软件预测 (<http://www.cbs.dk/services>)。

2 结 果

2.1 树鼩 *IL-2* 全长编码序列扩增

以经 ConA 诱导培养的树鼩淋巴细胞总 RNA 为材料, 反转录后由梯度 PCR 克隆出长度 465 bp 的核酸片段。将树鼩 *IL-2* PCR 产物经 T/A 克隆并双向测序, 得到树鼩 *IL-2* 全长编码序列 (GenBank 登录号: KC170305), 开放阅读框长度为 465 bp, 编码 154 个氨基酸 (图 1)。

树鼩 *IL-2* 序列

```

ATG CAC AAA ATG CAA CTC TTG TCT TGC ATT GCC TTC ACT CTT GTC CTC GTC ACA
M   H   K   M   Q   L   L   S   C   I   A   F   T   L   V   L   V   T
AAC AGT GCA CCT ACT CCG GGC GCT ACC GTG GAT ACA AAG GAA CCA CTG GAG CAC
N   S   A   P   T   P   G   A   T   V   D   T   K   E   P   L   E   H
TTA CTG CTG GAT TTA CAG AAG ATT TTG AAT GGA ATT AAT AAT TAC AAG AAC CCA
L   L   L   D   L   Q   K   I   L   N   G   I   N   N   Y   K   N   P
AAG ATG CTC TCC AGG ATG CTC ACA TTT AAA TTT TAT ACA CCC AGA AAG GCC ACA
K   M   L   S   R   M   L   T   F   K   F   Y   T   P   R   K   A   T
GAA TTG AAA CAT CTT CAG TGT CTA GAA GAA GAA CTC AAA CCT CTG GAG AAA GTG
E   L   K   H   L   Q   C   L   E   E   E   L   K   P   L   E   K   V
CTA AAT TTA GCT CAA AGC AAA AAC TTT CAC TTA AAA GAT ACC AGG CAA TTA ATC
L   N   L   A   Q   S   K   N   F   H   L   K   D   T   R   Q   L   I
AGC AAC ATC AAT GTA ACA GTT CTG GAA TTG AAG GGC TCT GAA ACA TCC GTG TGT
S   N   I   N   V   T   V   L   E   L   K   G   S   E   T   S   V   C
GAA TAT GAA GAC AGG GTA GCA ACT ATC GTG GAA TTT CTG AAT ATG TGG ATT ACC
E   Y   E   D   R   V   A   T   I   V   E   F   L   N   M   W   I   T
TTC TGT CAA AGC ATC ATT TCA ACA CTG AGT TGA
F   C   Q   S   I   I   S   T   L   S   -

```

图 1 树鼩 *IL-2* 核苷酸序列及对应氨基酸

Figure 1 Nucleotide sequences and corresponding amino acids of tree shrew *IL-2*

2.2 树鼩 *IL-2* 氨基酸序列分析

2.2.1 树鼩 *IL-2* 整体结构与亲缘关系分析

树鼩 *IL-2* 分子由 154 个氨基酸组成, 属于分泌蛋白, 具有一个潜在的 N-糖基化位点 (NVT), 有 2 个与二硫键形成有关的半胱氨酸, 整体结构与人 *IL-2* 相似 (图 2)。通过对树鼩与其他哺乳动物的 *IL-2* 核苷酸序列对比发现, 其与人及恒河猴的同源性较高 (分别为 91% 和 93%)。我们利用 BlastP 及 Clustal W 2.0 对树鼩与人 (NM_00586.3)、恒河猴 (NM_001047130.3)、小鼠 (NM_008366.3)、大鼠 (NM_053836.1)、牛 (NM_180997.1) 及绵羊 (NM_001009806.1) 等哺乳动物的 *IL-2* 氨基酸序列进行比较分析 (图 3), 同样发现树鼩 *IL-2* 氨基酸序列与人

及恒河猴同源性较高 (分别为 80% 及 79%), 而与大鼠、小鼠的同源性较低 (分别为 61% 及 53%)。同时, 我们利用 MEGA5.0 软件对树鼩和上述哺乳动物的 *IL-2* 进行亲缘关系分析并构建进化树, 结果发现, 树鼩与人及恒河猴处于同一分支, 而与大鼠、小鼠距离较远, 说明树鼩在进化关系上更接近于人和恒河猴 (图 3)。

2.2.2 树鼩 *IL-2* 蛋白三维建模及表面电荷分布分析

人 *IL-2* 主要由五个 α 螺旋结构构成, 存在一对二硫键, 分别形成于 Cys⁵⁷ 和 Cys¹⁰⁵ (Suzuki, 2010)。通过 Discovery Studio, 我们发现树鼩 *IL-2* 整体结构与人相似, 在其结构域中, 能找到相对应的二硫键 (图 4B)。同时, 人 *IL-2* 分子中保守氨基酸残基 Phe⁴²

和 Tyr⁴⁵ 能形成疏水域,也是与 IL-2R α 相结合的区域, Asn⁸⁸ 和 Asp²⁰ 之间可形成分子内氢键,也是与 IL-2R β 相结合的区域。其中,人 IL-2 分子中 Asn⁸⁸ 发生突变,会导致 IL-2 从 IL-2-IL-2R β 复合物上脱落,而 Ser¹²⁷ 和 Ser¹³⁰ 残基形成的区域是其与 IL-2R γ 相结合的区域 (图 4A),在我们所获得的树鼯 IL-2 结构域中的相应位置也可找到同样的区域 (图 4B),推测其具有相对应的功能。

但是,在人 IL-2 结构中未发现 N-糖基化位点,而树鼯 IL-2 结构中有一个 N-糖基化位点。同一参

数下的三维结构比较显示,人 IL-2 结构中有 5 个 α 螺旋,而树鼯 IL-2 结构中有 6 个,且某一区域的不规则卷曲也存在差异 (图 4C, D)。此外,我们对人与树鼯 IL-2 表面绝对电荷分布的分析表明,两者所带电荷基本相似,正、负电荷基本均等,但在某些区域,树鼯表面正电荷较少 (图 4E, F)。树鼯 IL-2 分子中的 N-糖基化位点和表面电荷上与人 IL-2 的差异可能影响其与其他蛋白分子的结合,这可能也解释了我们实验室使用鼠抗人 IL-2 抗体不能与树鼯 IL-2 发生交叉反应的原因。



图 2 树鼯与其他哺乳动物 IL-2 氨基酸序列比对分析

Figure 2 Alignment of deduced amino acid sequences of tree shrews IL-2 with those from other mammals

参与二硫键形成的半胱氨酸用方框标注;参与疏水域形成的苯丙氨酸和酪氨酸用方框加▲标注;参与氢键形成的天冬氨酸和天冬酰胺用方框加■标注;参与和 IL-2R γ 相结合的丝氨酸用方框加●标注。*: 序列上 100% 的保守区域;.: 保守替换;.: 非保守替换。

Cysteine residues involved in disulfide bond formation are marked with boxes; the phenylalanine and tyrosine residues involved in forming hydrophobic region are marked with boxes and▲; the glutamine and glycine residues involved in intermolecular hydrogen bonds are marked with boxes and■; the serine residues involved in binding with IL-2R γ are marked with boxes and●; *: 100% conserved regions;.: conservative replacement;.: non-conservative replacement.

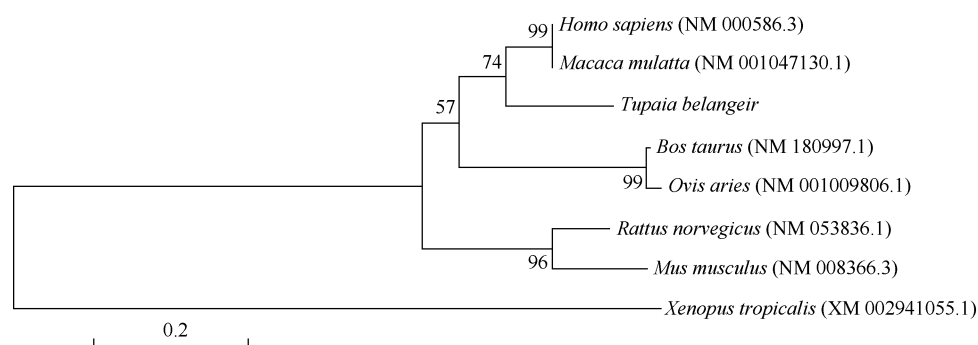


图 3 树鼯和其他哺乳动物 IL-2 之间的亲缘关系 (bootstrap: 10 000 replicates; method: Neighbour-Joining)

Figure 3 Phylogenetic relationships of IL-2 chains from tree shrews and other mammals

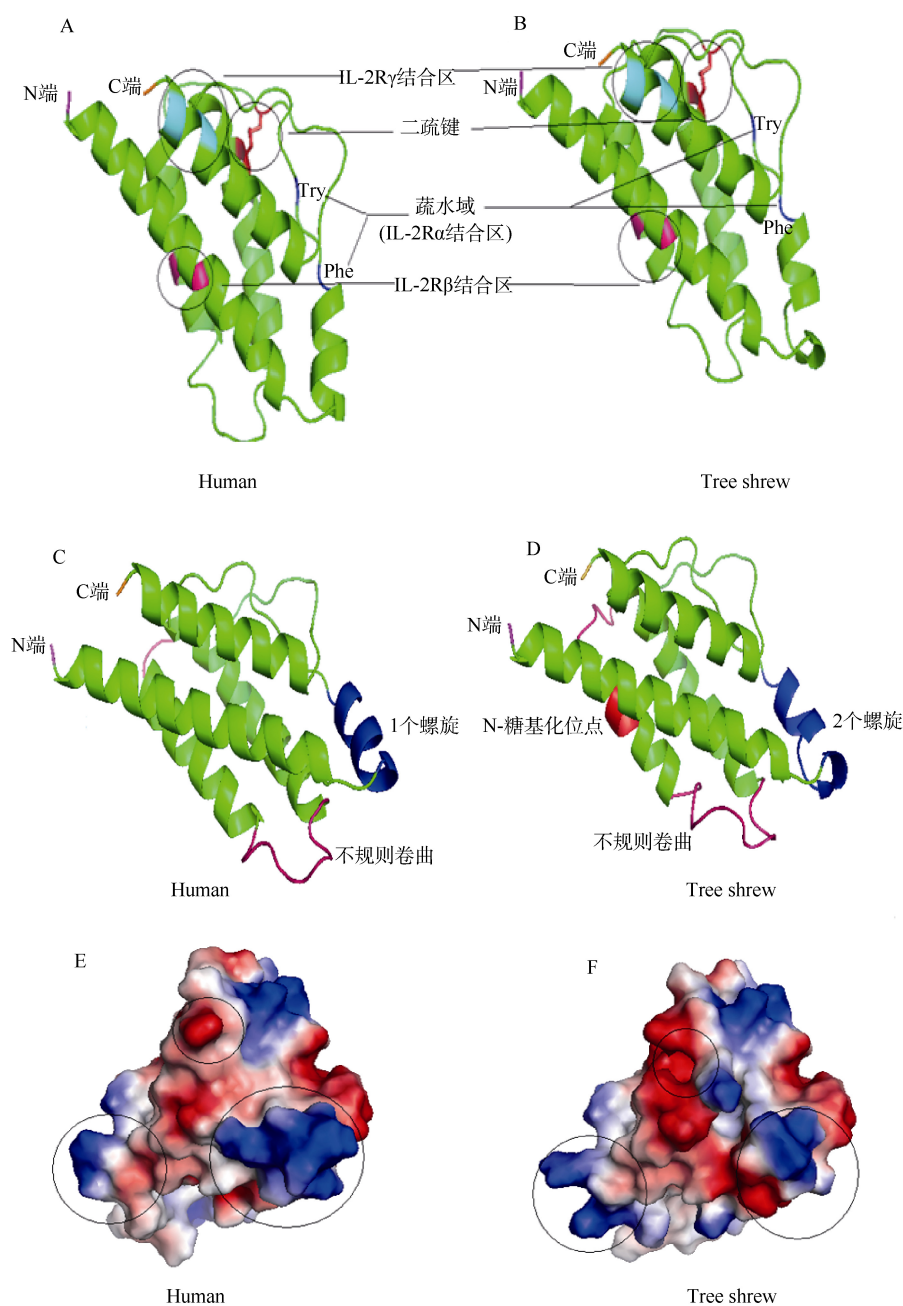


图 4 人 (A、C、E) 和树鼩 (B、D、F) *IL-2* 蛋白三维结构建模和表面绝对电荷比较
Figure 4 Modeling of three-dimensional structures and surface charges of the domain of human (A,C,E) and tree shrew (B,D,F) *IL-2* chains

A、B、C、D: 飘带图; E、F: 表面绝对电荷分布图; 蓝色: 正电荷; 红色: 负电荷。
A, B, C, D: surface views; E, F: surface charges; Blue: positive charges; Red: negative charges.

3 讨 论

本研究确定了树鼩 *IL-2* 基因全长编码序列, 并对其蛋白的同源关系与结构域进行了分析。研究表明, 树鼩 *IL-2* cDNA 序列和相应的蛋白质结构与其它哺乳动物相近, 其 Phe⁴² 和 Tyr⁴⁵ 残基可形成疏水

域, Asn⁸⁸ 和 Asp²⁰ 之间可形成分子内氢键, 根据已报道的人 *IL-2* 结构与功能文献 (Wang et al, 2005), 推测这两个区域分别是与 *IL-2R* α 及 *IL-2R* β 相结合的部位, 而 Gln¹²⁷、Ser¹²⁸ 和 Ser¹³¹ 残基形成的区域是与 *IL-2R* γ 相结合的区域, 其中, Gln¹²⁷ 与 *IL-2R* γ Gln¹²⁷ 及 Asn¹²⁸ 之间可形成分子内氢键。另外,

推测树鼩 IL-2 分子中的 Cys⁵⁷ 和 Cys¹⁰⁶ 残基可形成二硫链, 这对维持其蛋白结构及实现蛋白功能至关重要。但树鼩 IL-2 分子中具有一个人 IL-2 分子中所不具备的 N-糖基化位点, 结合糖基化在维持蛋白质与蛋白质之间结合中的作用 (Lis & Sharon,

1993), 推测树鼩 IL-2 与其受体及抗体的结合能力更强。另外, α 螺旋数目和表面电荷分布的明显差异仍有待对树鼩 IL-2 结构与功能特点开展进一步分析。

参考文献:

- Amako Y, Tsukiyama-Kohara K, Katsume A, Hirata Y, Sekiuchi S, Tobita Y, Hayashi Y, Hishima T, Funata N, Yonekawa M. 2010. Pathogenesis of hepatitis C virus infection in Tupaia belangeri. *Journal of Virology*, **84**(1): 303-311.
- Bozkaya H, Bozdayi AM, Aslan N, Türkay C, Sarioglu M, Çetinkaya H, Akdogan M, Cinar K, Erden E, Kose K, Senturk H, Akkiz H, Karayalcin S, Yurdaydin C, Uzunalimoglu O. 2000. Circulating IL-2 and IL-10 in chronic active hepatitis C with respect to the response to IFN treatment. *Infection*, **28**(5): 309-313.
- Cao J, Yang EB, Su JJ, Li Y, Chow P. 2003. The tree shrews: Adjuncts and alternatives to primates as models for biomedical research. *Journal of Medical Primatology*, **32**(3): 123-130.
- Church A C. 2003. Clinical advances in therapies targeting the interleukin-2 receptor. *QJM: An International Journal of Medicine*, **96**(2): 91-102.
- Fukuda R, Ishimura N, Ishara S, Chowdhury A, Moriyama N, Nogami C, Miyake T, Niigaki M, Tokuda A, Satoh S, Sakai S, Akagi S, Watanabe M, Fukumoto S. 1996. Intrahepatic expression of pro-inflammatory cytokine mRNA and interferon efficacy in chronic hepatitis C. *Liver*, **16**: 390-399.
- Gillis S, Union NA, Baker PE, Smith KA. 1979. The in vitro generation and sustained culture of nude mouse cytolytic T-lymphocytes. *The Journal of Experimental Medicine*, **149**(6): 1460-1476.
- Lenardo M J. 1991. Interleukin-2 programs mouse alpha beta T lymphocytes for apoptosis. *Nature*, **353**(6347): 858-861.
- Lis H, Sharon N. 1993. Protein glycosylation. Structural and functional aspects. *European Journal of Biochemistry*, **218**(1): 1-27.
- Morgan DA, Ruscetti FW, Gallo R. 1976. Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science*, **193**(4257): 1007-1008.
- Napoli J, Bishop GA, McGuinness PH, Painter DM, McCaughan GW. 1996. Progressive liver injury in chronic hepatitis C infection correlates with increased intrahepatic expression of Th1-associated cytokines. *Hepatology*, **24**(4): 759-765.
- Novacek MJ. 1992. Mammalian phylogeny: shaking the tree. *Nature*, **356**(6365): 121-125.
- Nie W, Fu B, O'Brien PC, Wang J, Su W, Tanomtong A, Volobouev V, Ferguson-Smith MA, Yang F. 2008. Flying lemurs—the 'flying tree shrews'? Molecular cytogenetic evidence for a Scandentia-Dermoptera sister clade. *BMC biology*, **6**: 18.
- Shanafelt AB, Lin Y, Shanafelt MC, Forte CP, Dubois-Stringfellow N, Carter C, Gibbons JA, Cheng SL, Delaria KA, Fleischer R, Greve JM, Gundel R, Harris K, Kelly R, Koh B, Li Y, Lantz L, Mak P, Neyer L, Plym MJ, Rocznik S, Serban D, Thrift J, Tsuchiyama L, Wetzel M, Wong M, Zolotarev A. 2000. A T-cell-selective interleukin-2 mutein exhibits potent antitumor activity and is well tolerated in vivo. *Nature Biotechnol*, **18**(11): 1197-1202.
- Suzuki S, Konnai S, Okagawa T, Githaka NW, Kariukit E, Gakuyat F, Kanduma E, Shirai T, Ikebuchi R, Ikenaka Y, Ishizuka M, Murata S, Ohashi K. 2012. Molecular cloning and characterization of Th1 and Th2 cytokines of African buffalo (*Syncerus Caffer*). *International Journal of Immunogenetics*, **39**(2): 170-182.
- Taniguchi T, Matsui H, Fujita T, Takaoka C, Kashima N, Yoshimoto R, Hamuro J. 1983. Structure and expression of a cloned cDNA for human interleukin-2. *Nature*, **302**(5906): 305-310.
- Theze J, Alzari PM, Bertoglio J. 1996. Interleukin 2 and its receptors: recent advances and new immunological functions. *Immunology Today*, **17**(10): 481-486.
- Voss SD, Soudel PM, Robb RJ. 1992. Characterization of the interleukin-2 receptors (IL-2R) expressed on human natural killer cells activated in vivo by IL-2: association of the p64 IL-2R gamma chain with the IL-2R beta chain in functional intermediate-affinity IL-2R. *The Journal of Experimental Medicine*, **176**(2): 531-541.
- Wang HP, Zhou YX, Yao ZQ, Hong S, Li GY. 1997. The preliminary study of infection of major tupaia with hepatitis C virus. *Journal of the Fourth Military Medical University*, **18**(4): 375-376. [王海平, 周永兴, 姚志强, 洪沙, 李光玉. 1997. 成年树鼩实验感染丙型肝炎病毒的初步研究. 第四军医大学学报, **18**(4): 375-376]
- Wang X, Rickert M, Garcia KC. 2005. Structure of the quaternary complex of interleukin-2 with its α , β and γ c receptors. *Science*, **310**(5751): 1159-1163.
- Zelus D, Robinson-Rechavi M, Delacore M, Aurault C, Laudet V. 2000. Fast evolution of interleukin-2 in mammals and positive in ruminants. *Journal of Molecular Evolution*, **51**(3): 234-244.
- Zhao XP, Tian ZF, Chen YC, Yang C, Tian DY, Yang DL, Hao LJ. 2005. Infection of tupaia hepatocytes with hepatitis C virus in vitro. *Chinese Journal of Hepatology*, **13**(11): 805-807. [赵西平, 田展飞, 陈义春, 杨春, 田德英, 杨东亮, 郝连杰. 2005. 丙型肝炎病毒体外可感染树鼩肝细胞. 中华肝脏病杂志, **13**(11): 805-807.]