

# 过表达 COL1A1cDNA 腺病毒感染 TT 型成骨细胞株后对其生物学性能影响的研究

曹飞 沈彬\* 杨静 周宗科 康鹏德 裴福兴  
四川大学华西医院骨科,成都 610041

中图分类号: R34 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2014) 05-0461-05

**摘要:** **目的** 本实验前期研究发现 I 型胶原  $\alpha 1$  链基因-4997G $\rightarrow$ T 纯合突变可降低成骨细胞生物学性能。现利用基因重组技术提高 TT 型成骨细胞 COL1A1 基因 mRNA 的表达水平,观察能否逆转 COL1A1 基因-4997G $\rightarrow$ T 突变对 TT 型成骨细胞生物学性能的影响。**方法** 构建过表达 COL1A1 基因的腺病毒载体,并感染 TT 型成骨细胞。比较感染后 TT 型成骨细胞 I 型胶原  $\alpha 1$  链 mRNA 的表达水平、I 型胶原的含量、细胞基质钙含量以及钙结节数量的差异。**结果** 过表达 COL1A1 基因的腺病毒载体感染后,TT 型成骨细胞 I 型胶原  $\alpha 1$  链 mRNA 的表达水平、I 型胶原的含量、细胞基质钙含量以及钙结节数量较未感染组及空病毒组有显著提高,差异有统计学意义。**结论** 利用腺病毒载体提高 TT 型成骨细胞的 I 型胶原  $\alpha 1$  链 mRNA 的表达水平,可增加 I 型胶原的含量、细胞基质钙含量以及钙结节数量。TT 型成骨细胞 I 型胶原合成的减少导致细胞外基质减少,导致钙质沉着部位不足可能是-4997G/T 患者 BMD 降低的原因。

**关键词:** I 型胶原;基因多态性;-4997 位点;成骨细胞

## The effect of over-expression of COL1A1cDNA in adenovirus-infected TT osteoblasts on their biochemical functions

CAO Fei, SHEN Bin, YANG Jing, ZHOU Zongke, KANG Pengde, PEI Fuxing

Department of Orthopedic Surgery, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, China

Corresponding author; SHEN Bin, Email: shenbin71@hotmail.com

**Abstract:** **Objective** Based on the findings that the homozygotic mutation of G to T in  $\alpha 1$  chain-4997 could lower the biochemical functions in osteoblasts in our preliminary study, to enhance COL1A1 mRNA expression level using recombinant DNA technology in TT genotype osteoblasts, and to observe whether it could reverse the effect of COL1A1-4997 G $\rightarrow$ T mutation on the biology performance in TT genotype osteoblasts. **Methods** The COL1A1cDNA over-expression adenovirus vector was constructed and used to infect TT genotype osteoblasts. The expression level of COL1A1 mRNA, the content of type I collagen, the content of the calcium in cell matrix, and the amount of calcium nodules in infected TT genotype osteoblasts were detected and analyzed. **Results** After the infection of COL1A1cDNA over-expression adenovirus vector in TT genotype osteoblasts, the expression level of COL1A1 mRNA, the content of type I collagen, the content of the calcium in cell matrix, and the amount of calcium nodules increased significantly compared with those in uninfected group and non-virus group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The expression level of COL1A1 mRNA increases after the infection of COL1A1cDNA over-expression adenovirus vector in TT genotype osteoblasts, leading to an improvement of the content of type I collagen, calcium in cell matrix, and the amount of calcium nodules. The lower content of synthesized type I collagen in TT genotype osteoblasts results in the decrease of extracellular matrix, leading to insufficient site for calcium deposition, which maybe the cause of low BMD in TT genotype patients.

**Key words:** Type I collagen; Polymorphism; -4997 site; Osteoblast

I 型胶原是构成骨基质的重要成分,约占骨有机质的 90%,是维持骨构架和骨生物力学特性的关键部分。正常骨组织中胶原纤维排列紧凑形成板层

样结构,多层胶原纤维板以互相垂直的方向交织在一起。这种结构可以防止微裂痕的延伸。而骨质疏松患者骨内胶原纤维排列成疏松的网状且矿化不全,致使脆性增加,骨强度降低。因此 I 型胶原的改变在骨质疏松症的发病中起重要作用。本实验前

\*通讯作者: 沈彬, Email: shenbin71@hotmail.com

期研究了 I 型胶原在骨质疏松症的发病中所起的作用。通过对成都地区绝经后妇女的研究发现 COLIA1 基因-4997G/T 位点多态性存在三种基因型:GG 型:野生纯合子型;GT 型:杂合突变型;TT 型:纯合突变型。TT 基因型患者的 COLIA1 mRNA 表达水平和骨密度显著低于 GG 和 GT 型患者,且 TT 基因型患者的骨组织的生物力学强度也略低于 GG 和 GT 型患者。认为-4997G/T 的纯合突变能影响 COLIA1 基因的表达和 I 型胶原的合成,导致骨基质矿化不足,从而导致 BMD 降低,骨的生物力学性能下降<sup>[1-3]</sup>。

进一步研究发现 TT 型成骨细胞的 COLIA1 mRNA 表达量、I 型胶原含量,细胞基质钙含量及钙结节数量均较 GG、GT 型低。推测-4997G/T 的纯合突变能影响 COLIA1 基因的表达和 I 型胶原的合成,导致骨基质矿化不足,从而导致 BMD 降低,可能是绝经后骨质疏松症 BMD 降低的发病机制。现设想采用基因重组技术提高 TT 型成骨细胞的 COLIA1 mRNA 表达量和 I 型胶原的合成和分泌,探讨能否逆转上述病理过程,进一步证实绝经后骨质疏松症 BMD 降低的发病机制。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器与试剂

主要仪器:

超净工作台,丹麦 Heto-Hoten 公司;5% CO<sub>2</sub> 孵箱,日本 SANYO 公司;紫外-可见分光光度计,美国 PERKIN ELMER 公司;FTC2000 实时荧光定量基因扩增仪,加拿大枫岭公司;微型台式离心机,日本 Sanyo 公司;微量移液器,法国 Gilson 公司;水平电泳仪,美国 BIO-RAD 公司;凝胶成像系统(Gel Doc 1000),美国 BIO-RAD 公司。

主要试剂:

DMEM 高糖培养基 Gibco 公司;胎牛血清;Hyclon 生物公司,限制性内切酶 Eco31I, Fermentas 公司;dNTP,美国 Promega 公司;Marker,北京天为时代生物公司;TaqDNA 聚合酶,立陶宛 MBI 公司;人 I 型胶原 ELISA 试剂盒, Sigma 公司;DNA 提取试剂盒,上海生物工程有限公司。

## 2 方法

### 2.1 重组 COLIA1 基因腺病毒载体的构建

重组 COLIA1 基因腺病毒载体构建委托上海吉凯生物公司完成。

### 2.2 分组

实验分三组:A 组:TT 型成骨细胞株组;B 组:TT 型成骨细胞株过表达 COLIA1 cDNA 腺病毒载体感染组;C 组:TT 型成骨细胞株空腺病毒载体感染组。

### 2.3 重组 COLIA1 基因腺病毒载体感染 TT 型成骨细胞

将 A、B、C 三组细胞株调整细胞浓度为  $5 \times 10^5$  个/mL 分别接种于 6 孔板,5 mL/孔。待细胞爬满 80% 孔底时,开始转染腺病毒。A 组加入细胞培养液 20  $\mu$ L;B 组加入 COLIA1 基因过表达腺病毒载体 20  $\mu$ L;C 加入空载体 20  $\mu$ L,之后进行成骨细胞生物学性能测定。每组实验重复三次。

### 2.4 成骨细胞生物学性能的测定

**2.4.1 成骨细胞 COLIA1 mRNA 表达量的测定:**培养 72 h 后用 Trizol 法提取总 RNA。以其中的 mRNA 作为模板,用逆转录试剂盒,按说明书逆转录合成 cDNA,在 PCR 仪上进行扩增,然后进行 RT-PCR。COL I A1 基因扩增引物序列:上游引物:5'-ACCAGCATCACCTTAGCAC-3';下游引物:5'-CTGGTCCTGATGGCAAAACT-3'。扩增体系:cDNA 50 ng,25 mM MgCl<sub>2</sub> 2  $\mu$ L,100 ng/ $\mu$ L 引物各 0.17  $\mu$ L,10  $\times$  PCR buffer 215  $\mu$ L,Taq 酶 1 U,加去离子水至终体积 25  $\mu$ L。反应条件:94  $^{\circ}$ C 预变性 5 min,随后进入循环:94  $^{\circ}$ C 变性 30 s,退火 45 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 60s,30 个循环,72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。取产物用琼脂糖凝胶电泳,经溴化乙锭染色在凝胶成像系统上扫描测定目标基因和  $\beta$ -2actin 内参照基因的电泳条带灰度积分二者比值代表目标基因的相对表达含量。

**2.4.2 I 型胶原含量的测定:**培养 72h 后根据人 I 型胶原 ELISA 试剂盒说明书进行 I 型胶原含量测定。其主要步骤如下:①实验开始前 20 min 从冰箱中取出试剂盒,以平衡至室温(20 ~ 25  $^{\circ}$ C)。②取出酶标板,倾去孔中液体,用洗涤液洗板 1 次,滤纸上拍干。③建立标准曲线:设标准孔 8 孔,每孔加入样品稀释液 100  $\mu$ L,第一孔加标准品 100  $\mu$ L,混匀后用加样器吸出 100  $\mu$ L,移至第二孔。如此反复作对倍稀释至第七孔,最后,从第七孔中吸出 100  $\mu$ L 弃去,使之体积均为 100  $\mu$ L。第八孔为空白对照。④待测孔中每孔加入细胞上清液 100  $\mu$ L。将反应板置 37  $^{\circ}$ C 120 min。用洗涤液将反应板充分洗涤 4 ~ 6 次,向滤纸上印干。每孔中加入第一抗体工作液 50  $\mu$ L。将反应板充分混匀后置 37  $^{\circ}$ C 60 min 用洗涤液将反应板充分洗涤 4 ~ 6 次,向滤纸上印干。每

孔加酶标抗体工作液 100  $\mu\text{L}$ 。将反应板置 37  $^{\circ}\text{C}$  60 min,洗板同前。每孔加入底物工作液 100  $\mu\text{L}$ ,置 37  $^{\circ}\text{C}$  暗处反应 5 ~ 10 min。每孔加入 50  $\mu\text{L}$  终止液(硫酸)混匀。在 492 nm 处测吸光值。每组样品设 3 个复孔。

**2.4.3 细胞基质钙含量测定:**培养 18d 后开始测细胞基质钙含量。吸出培养基, pbs 冲洗 2 遍,用 0.2% NaOH 1 ml 溶解细胞及间质,于 422.7 nm 波长,在原子吸收分光光度仪上测定每孔总  $\text{Ca}^{2+}$  含量。

**2.4.4 钙结节数量测定:**培养 18 d 后进行茜素红染色,在倒置相差显微镜下计每孔钙结节数量。计数由两位实验室技师独立进行,如有分歧由上级技师裁定

**2.4.5 统计学方法:**所有数据均采用  $\bar{x} \pm s$  表示,利用 spss12.0 软件进行统计分析,组间比较采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

#### 3.1 过表达 COL1A1cDNA 腺病毒载体构建检测结果

从含有 COL1A1 基因 cDNA 文库中,利用 PCR 方法钓取 COL1A1 基因。将 COL1A1 基因与酶切线性化的载体进行定向连接,其产物转化细菌感受态细胞。对长出的克隆先进行菌落 PCR 鉴定,再对 PCR 鉴定阳性的克隆进行测序和比对分析,比对正确的克隆即为构建成功的目的质粒。我们得到的测序结果与目标基因序列匹配率达 99%。说明目标基因克隆成功。

**3.1.1 质粒表达 western-blot 检测结果:**pDC315-COL1A1 质粒为 COL1A1 的过表达腺病毒载体,是目的基因融合 FLAG 共同表达;表达克隆中插入目的基因片段大小:4395bp。

通过 Western Blot 检测 pDC315-COL1A1 质粒转染 293T 的样品,可以观察到 130KDr-250KDr 间检测到特征条带。其大小和 COL1A1-FLag 融合蛋白(161KDr + 2KDr = 163KDr)相吻合。据此可以判断 COL1A1 表达。说明重组质粒构建成功。结果如图 1 所示。

**3.1.2 腺病毒感染表达 western-blot 检测结果:**通过 Western Blot 检测重组质粒腺病毒感染 293T 的样品,可以观察到 130KDr-250KDr 处有条特征带,其大小和 COL1A1-FLag 融合蛋白( ~ 161KDr + 2KDr = ~ 163KDr)相吻合。因此可以判断 COL1A1-

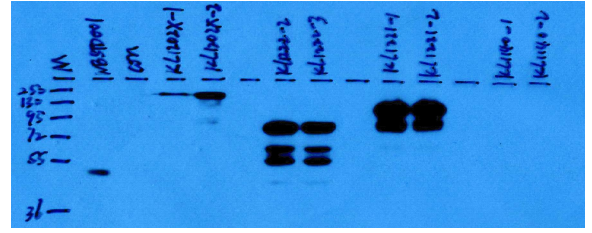


图 1 质粒表达 western-blot 检测结果

**Fig. 1** Western blotting results of the plasmid detection  
M 为 Marker;WBSTD001: WB 标准品;带 3 \* FLAG 标签,融合 GFP 基因(分子大小:48KDr);con 为 293T 细胞样品;KL1202X-1,-2 为目的质粒[pDC315-COL1A1]转染 293T 后样品;一二抗稀释比例为 1:5 000

Adenovirus 表达 COL1A1。说明重组质粒腺病毒包装成功。结果如图 2 所示。

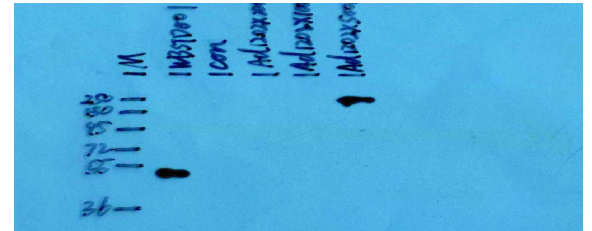


图 2 腺病毒感染表达 westren blot 检测结果

**Fig. 2** Western blotting results of the expression of adenovirus vector

M 为 Marker;WBSTD001: WB 标准品;带 3 \* FLAG 标签,融合 GFP 基因(分子大小:48KDr);Con 为 293T 细胞样品;20ul,100ul,500ul 为不同量目的病毒[COL1A1-Adenovirus]感染 293T 后样品;一二抗稀释比例为 1:500

综上可知过表达 COL1A1 基因腺病毒载体构建成功。

#### 3.2 各组成骨细胞株的 COL1A1 mRNA 表达量的测定

结果显示 A,B,C 三组的 COL1A1mRNA 表达量分别为:  $0.4965 \pm 0.05549$ 、 $0.5662 \pm 0.04242$ 、 $0.4936 \pm 0.06143$ 。A,C 组 COL1A1mRNA 表达量低于 B 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。A 组与 C 组的 COL1A1mRNA 表达量无统计学意义( $P > 0.05$ )见图 3。

#### 3.3 I 型胶原含量的测定

A,B,C 三组的 I 型胶原含量分别为: $0.5670 \pm 0.06987$ 、 $0.6448 \pm 0.04117$ 、 $0.5688 \pm 0.05953$ 。A,C 组 I 型胶原含量低于 B 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而 A,C 组之间无明显差异( $P > 0.05$ )见图 4。

#### 3.4 细胞基质钙含量以及钙结节数量的测定

细胞基质钙含量 A 组( $0.4697 \pm 0.05351$ )和 C 组( $0.4882 \pm 0.04961$ )低于 B 组( $0.5725 \pm$

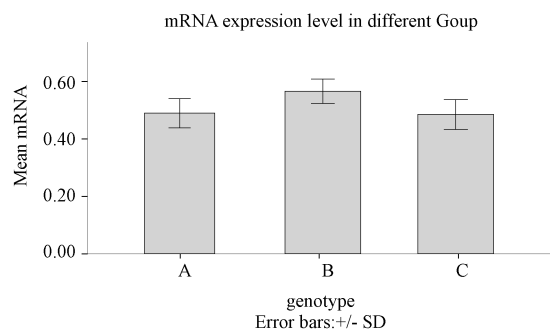


图 3 三组间 COL1A1mRNA 表达水平的比较

Fig. 3 Comparison of the expression level of COL1A1mRNA among the three groups

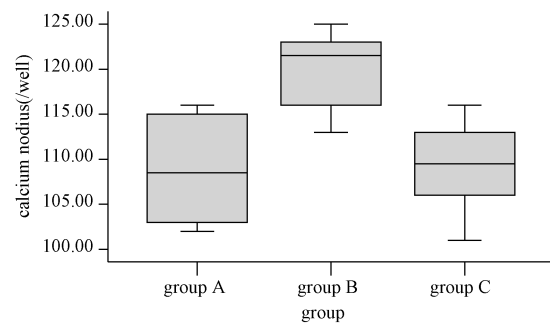


图 6 三组间钙结节数量的比较

Fig. 6 Comparison of the amount of calcium nodules among the three groups

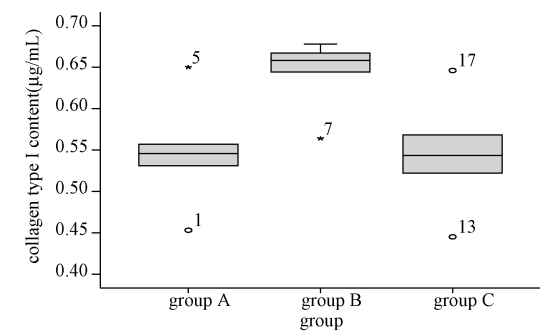


图 4 三组间 I 型胶原合成量的比较

Fig. 4 Comparison of the content of type I collagen among the three groups

0.04867), 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 而 A 组与 C 组之间无明显差异 ( $P > 0.05$ )。钙结节数量 A 组 ( $108.83 \pm 6.24$ ) 和 C 组 ( $109.17 \pm 5.34$ ) 低于 B 组 ( $120.00 \pm 4.56$ ), 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。A 组与 C 组之间无明显差异 ( $P > 0.05$ ) 见图 5, 6。

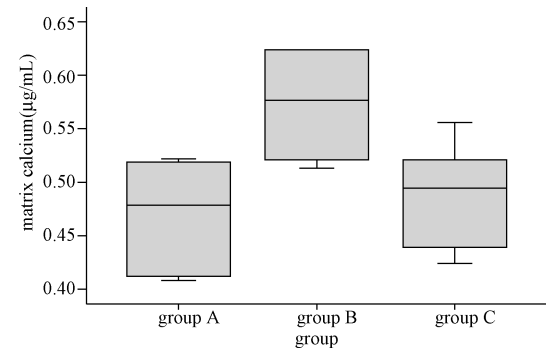


图 5 三组间钙基质含量的比较

Fig. 5 Comparison of the content of calcium in matrix among the three groups

4 讨论

在骨质疏松症一系列的病理变化中, I 型胶原

与之关系密切<sup>[4]</sup>。Wang<sup>[5]</sup>等研究发现随年龄的增长, 长骨的矿化增加, 胶原数量减少, 且显微结构发生变化。绝经后骨质疏松妇女 I 型胶原含量降低, 在偏振光显微镜下纤维变细排列紊乱, 骨小梁中断。Lubec<sup>[6]</sup>和 Shen<sup>[7]</sup>等研究均发现, 去卵巢大鼠股骨 I 型胶原含量明显低于假手术组, 且结构发生改变。

I 型胶原对骨质疏松症的微观影响机制主要在于骨基质中 I 型胶原约占有机成分的 90%, 它对维持骨结构的完整及骨生物力学特性非常重要。I 型胶原纤维的排列方向决定了羟基磷灰石沉积的位置, 且纵向胶原纤维的取向与骨的弹性模量和强度有关。正常骨组织中胶原纤维排列紧凑形成板层结构, 多层胶原纤维板像夹板一样以互相垂直的方向重叠、粘合。这种结构有利于防止微裂痕的延伸。骨质疏松症患者骨内胶原纤维排列成疏松的网状结构且矿化不全, 致使骨脆性增加, 强度下降。骨胶原过度降解或合成减少均可引起骨弹性和韧性降低, 骨盐失去依附, 溶解增多, 极易导致骨质疏松。因此, 骨胶原对维持骨结构的完整及骨生物力学特性, 防止骨的变形和断裂起着非常重要的作用。

此外, I 型胶原是细胞外基质的主要组成成分, 它和其他胞外成分共同构成成骨细胞正常生存和工作的微环境。因此胞外 I 型胶原质和量的改变必然会影响到成骨细胞的生物学性能。本实验前期研究结果显示 I 型胶原  $\alpha 1$  链-1997G/T 多态性可通过减少 COL1A1mRNA 的表达, 而导致 I 型胶原合成量减少, 不能提供足够的钙质附着部位, 使得细胞外基质矿化不足, 以致 BMD 降低, 骨的脆性增加。

目前研究认为 I 型胶原  $\alpha 1$  链-1997G/T 多态性影响 I 型胶原合成的机制主要是-1997G/T 多态性位点是位于 I 型胶原  $\alpha 1$  链基因启动子区。该区域有调控成骨细胞分化的关键转录因子  $cbf\alpha 1$  因子特

异性结合位点<sup>[8]</sup>。而-1997G→T 突变可能影响 cbfa1 因子与 I 型胶原 α1 链基因启动子区结合,从而抑制 I 型胶原 α1 链的转录和成骨细胞的分化,最终导致 I 型胶原的合成减少。Harada<sup>[9]</sup> 等发现稳定转染 cbfa1 可诱导或上调 I 型胶原 mRNA 的表达,从而证实了 cbfa1 与 I 型胶原 α1 链基因启动子区的结合水平可影响 I 型胶原 mRNA 的表达。

本实验前期研究结果显示 TT 型成骨细胞的 COLIA1mRNA 表达量、I 型胶原含量,细胞基质钙含量及钙结节数量均较 GG、GT 型低。证实了-1997G/T 的纯合突变能影响 COLIA1 基因 mRNA 的表达和 I 型胶原的合成。从而推测 COLIA1 基因-1997G/T 位点多态性影响 BMD 的病理机制可能是-1997G→T 突变影响 cbfa1 因子与 I 型胶原 α1 链基因启动子区结合,从而抑制 I 型胶原 α1 链的转录,使 I 型胶原 α1 链 mRNA 的表达水平降低,I 型胶原 α1 链合成减少,而导致 I 型胶原合成量减少,不能提供足够的钙质附着部位,使得细胞外基质矿化不足,以致 BMD 降低<sup>[3]</sup>。

目前骨质疏松症的基因治疗还处于动物试验阶段,但展现出诱人的前景<sup>[10-12]</sup>。因此我们设想利用基因重组技术,将 COLIA1 基因导入成骨细胞以提高 I 型胶原 α1 链 mRNA 的表达水平,观察能否逆转上述病理过程,从而验证上述推论。因此我们构建了过表达 COLIA1cDNA 腺病毒载体。重组 COLIA1 基因腺病毒载体感染后 TT 型成骨细胞的 COLIA1 基因 mRNA 的表达水平较未感染组和阴性载体感染组有显著提高,且 I 型胶原合成量、细胞基质钙含量及钙结节数量均有显著增加,差异有统计学意义。而上述指标在未感染组和阴性载体感染组之间无明显差异。说明重组 COLIA1 基因腺病毒载体感染后确实可以提高 TT 型成骨细胞 COLIA1 基因 mRNA 的表达水平,I 型胶原合成量、细胞基质钙含量及钙结节数量,而空腺病毒载体感染后则不具有此作用。说明提高 COLIA1 基因 mRNA 的表达水平,可以提高 I 型胶原合成量、细胞基质钙含量及钙结节数量。从而证实 COLIA1 基因-1997G/T 位点多态性影响 BMD 的病理机制是-1997G→T 突变可能抑制 I 型胶原 α1 链的转录,使 I 型胶原 α1 链 mRNA 的表达水平降低,I 型胶原 α1 链合成减少,而导致 I 型胶原合成量减少,不能提供足够的钙质附着部位,使得细胞外基质矿化不足,以致 BMD 降低。

## 【 参 考 文 献 】

- [ 1 ] 李勇,沈彬,黄强,等. I 型胶原基因启动子区-1997G/T 位点多态性和绝经后妇女骨密度的相关性研究. 四川大学学报(医学版),2010,41(1):121-124.  
LI Yong, SHEN Bin, HUANG Qiang, et al. Study on the Correlation Between the Polymorphism of 1997G/T Site of Collagen I Alpha I Gene and Bone Mineral Density in Postmenopausal Women. J Sichuan Univ (Med Sci Edi) 2010, 41(1):121-124.
- [ 2 ] 李勇,沈彬,杨静,等. COL I A1 基因启动子区-1997G/T 位点多态性对骨 COL I A1 基因 mRNA 表达量和骨生物力学的影响. 中国骨与关节外科杂志,2009,2(5):411-416.  
LI Yong, SHEN Bin, YANG Jing, et al. A correlative study of -1997G/T site polymorphism of COLIA1 gene and biomechanical property of bone. Chinese Journal of Bone of Joint Surgery, 2009, 2(5):411-416.
- [ 3 ] 曹飞,沈彬,李勇,等. I 型胶原 α1 链基因-1997G→T 突变对成骨细胞生物学性能的影响. 四川大学学报(医学版),2010,41(5):831-835.  
CAO Fei, SHEN Bin, LI Yong, et al. Influence of Mutation of -1997G/T of COLIA1 Gene on the Biochemical Function of Osteoblast J Sichuan Univ (Med Sci Edi), 2010, 41(5):831-835.
- [ 4 ] Darling AJ, Boose JA, Spaltro J. Virus assay methods: accuracy and validation. Biologicals, 1998, 26(2):105-10.
- [ 5 ] Wang X, Shen X, Li X, et al. Age-related change in the collagen network and toughness of bone. Bone,2002,31(1):1-7.
- [ 6 ] Lubec G, Labudova O, Seebach D, et al. α-methyl-proline restores normal levels of bone collagen type I synthesis in ovariectomizedrats. Life Sci, 1995, 57:2245-2252.
- [ 7 ] Shen Bin, Mu Jian-xiong, Pei Fu-xing. Relationship among bone mineral density, collagen composition, and biomechanical properties of callus in the healing of osteoporotic fracture. Chinese Journal of Traumatology, 2007,10(6):360-365.
- [ 8 ] Garcia-Giralt N, Enjuanes A, Bustamante M, et al. In vitro functional assay of alleles and haplotypes of two COLIA1-promoter SNPs. Bone, 2005,36(5):902-908.
- [ 9 ] Harada H, Tagashira M, Fujiwara M, et al. Cbfa1 isoforms exert functional differences in osteoblast differentiation. J Biol Chem, 1999, 274: 6972-6987.
- [ 10 ] Krebsbach PH, Franceschi RT. GENE therapy-directed osteogenesis;BNP-7-transduced human fibroblasts from bone in vivo. Hum Gen Ther,2000,11(8):1201-1210.
- [ 11 ] Baltzer AW, Whalen JD, Wooley P, et al. Gene therapy for osteoporosis: evaluation in a murine ovariectomy modle. Gene Ther, 2001, 8(23):1770-1776.
- [ 12 ] Tsuchida H, Hashimoto J, Crawford E, et. al. Engineered allogenic mesenchymal stem cells repair femoral segment defect in rats. Rthop Res,2003,21(1):44-53.

(收稿日期: 2013-10-17)

过表达 COLIA1cDNA 腺病毒感染 TT 型成骨细胞株后对其生物学性能影响的研究

 万方数据  
WANFANG DATA 文献链接

作者：

[曹飞](#), [沈彬](#), [杨静](#), [周宗科](#), [康鹏德](#), [裴福兴](#), [CAO Fei](#), [SHEN Bin](#), [YANG Jing](#), [ZHOU Zongke](#), [KANG Pengde](#), [PEI Fuxing](#)

作者单位：

[四川大学华西医院骨科, 成都, 610041](#)

刊名：

[中国骨质疏松杂志](#) 

英文刊名：

[Chinese Journal of Osteoporosis](#)

年, 卷(期)：

[2014\(5\)](#)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zggzsszz201405001.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zggzsszz201405001.aspx)