

2008年1月21日第十九期

[www.ebiotrade.com](http://www.ebiotrade.com)

## 一、研究前沿：

- 干细胞先锋叫板 07 干细胞最重大成果
- 万名研究者最新发现：多个新基因
- 新突破：miRNA“卵生姐妹”
- 挑战原理论：最新基因转录机制
- 新型干细胞：真正的神经干细胞？
- 《自然》《科学》公布两项糖尿病研究大发现
- 糖尿病重要突破：
- 利用蛋白质激发自身胰脏细胞合成胰岛素
- 实验室中创造出跳动心脏
- 《科学》：核蛋白也能够识别前列腺肿瘤
- 《自然》：首次发现线虫也睡觉
- 过敏反应是如何被触发的
- 6000 多个基因控制着体重

## 二、华人科学家成果：

- 华人科学家《科学》发布革新性新技术
- 解廷又一文章发表干细胞新成果
- 中山大学等最新干细胞研究成果
- 长江学者最新《细胞》解开神经学一谜团



## 三、专题聚焦：

荧光猪：展示生命科学的炫丽色彩

来自试剂盒的安全性警告

抗癌海洋物质关键信息被发现

## 四、2007 生物技术盛宴：

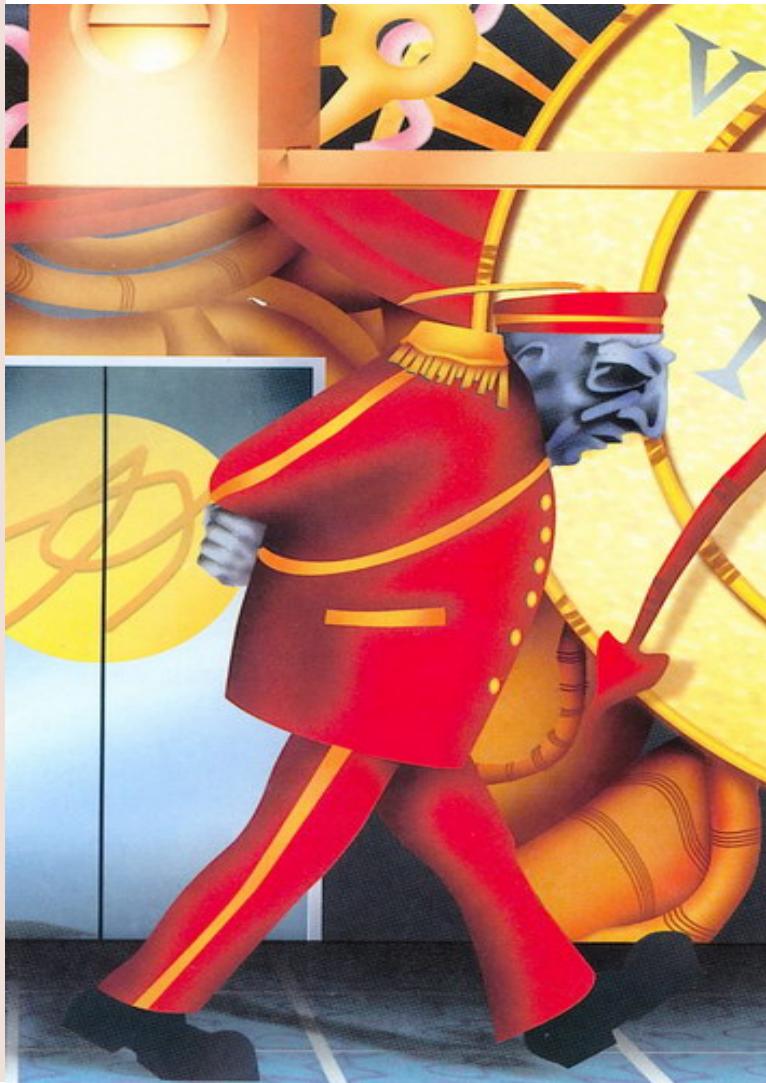
蛋白技术篇之蛋白样品制备

生物通技术盛宴 2：

蛋白样本制备产品大PK

生物通技术盛宴 3：

磷酸化蛋白和糖基化蛋白的样本制备





# 干细胞先锋叫板

## 07 干细胞最重大成果

生物通报道：为了跨越医疗研究中使用人类胚胎的伦理争议，干细胞专家 Robert Lanza 领导的研究人员开发出一种不损伤胚胎就能获得活干细胞系的方法。他还叫板了 2007 年度干细胞最重要成果——将皮肤细胞转化成干细胞。

研究人员从胚胎中抽取一个细胞，并将一种叫做层粘蛋白（laminin）的常见分子引入其中已维持其干细胞多能性。抽取该细胞的胚胎之后的发育不会受到活组织切片检查的影响。这项研究的结果发表在本周四的《Cell Stem Cell》。这项新技术有可能加速干细胞在临幊上用于治疗各种疾病的进程。

由于能够转化成身体重任何类型的细胞并能替代受损或患病细胞、组织和器官，干细胞被认为是一个潜在的“魔术子弹”。但是，由于获得干细胞的过程需要破坏胚胎，所以胚胎干细胞研究存在很大的伦理争议，限制了其发展和应用。

分别来自美国和日本的两个研究组通过将人类皮肤细胞转化程干细胞，从而规避了这个问题。澳大利亚的研究人员 Alan Trounson（澳大利亚人，目前在美国加州工作）评价说，皮肤细胞将可能变成干细胞最常用的源泉。Alan Trounson 领导着世界最大的干细胞研究计划。

但是，由于转化过程引入了可能的致死遗传变异和病毒，因此皮肤细胞离用于临床还有很远的距离。这意味着，没有这些突变风险的胚胎干细胞目前仍然是用于医疗的唯一选择。

干细胞先锋 Robert Lanza 希望他所发明的这项能够有助于保护胚胎的技术将能够促使美国管理者能够容许资助对新胚胎干细胞

系的研究。

这个前途无量的领域的进步在美国受到了联邦经费资助的限制。先进细胞技术的 Lanza 表示，在接下来的几个月里，他们将会创造出许多与此类似的细胞。他表示，希望这个领域能够突破伦理障碍，解下妨碍发展的枷锁。Lanza 是特别提醒了利用由皮肤细胞获得干细胞进行医疗所存在的风险。（生物通雪花）

背景资料：利用四个基因，将皮肤细胞转化成干细胞 [《Cell》《科学》两篇文章揭示干细胞研究最新突破](#)

在 11 月 22 日的《Cell》和《科学》杂志上，分别来自日本和美国的两个研究组通过独立研究，首次利用人体表皮细胞制造出了类胚胎干细胞。这一技术有望用于特定疾病的干细胞研究和治疗，并且避开了利用晶胚或卵母细胞获得胚胎干细胞的伦理争议。

日本京都大学再生医科学研究所教授 Shinya Yamanaka 等研究人员及美国威斯康辛大学研究小组于 21 日分别表示，已成功通过对人类皮肤细胞进行基因操作，制成与胚胎干细胞(ES 细胞)一样可分化构成其它类型细胞的人工干细胞。这种人工干细胞与 ES 细胞不同，它在制作时不需使用人类受精卵或卵子，避免了诸多伦理及道德问题。

Shinya Yamanaka 等研究人员使用特殊病毒在成人皮肤细胞中植入四种遗传基因进

行培养后，制成了具有与 ES 细胞类似性质的干细胞。这种干细胞在保持未分化性质的同时不断增殖，并可成长为多种类型的细胞。威斯康辛大学研究小组利用病毒在胎儿及新生儿皮肤细胞中植入四种基因进行培育，也获得了同样的干细胞。

去年 6 月，Shinya Yamanaka 所在小组率先通过在白鼠皮肤细胞中植入与此次相同的四种基因制成了人工干细胞。此后，各国就利用人类细胞制成干细胞的课题展开了激烈竞争。

在最新的研究中，Yamanaka 小组和美国威斯康辛大学 James Thomson 领导的小组首次独立实现了利用人类细胞制造 iPSCs 的壮举，也就是说，这项科研竞赛以平局收场。

Yamanaka 小组利用此前的 4 种基因副本——Oct3/4, Sox2, c-Myc 和 Klf4，导入方式也与此前的小鼠实验类似，只不过实现基因重组的细胞分别来自一位 36 岁妇女的表皮和一位 69 岁男性的结缔组织。研究人员表示，利用该技术，大约每 5000 个细胞就能制造一个 iPC 细胞系，这一高效率保证他们在每项实验中都能得到数个细胞系。相关论文在线发表于《细胞》上。

美国加州再生医学研究院的 Richard Murphy 评价说，Yamanaka 博士和他的研究

组创造了干细胞领域的又一个极其重要的贡献。他们的结果为制造多功能细胞的替代资源用于人类患者开启了一道大门。但是，目前仍然还需要彻底分析和了解这些诱导的多功能细胞的能力到底有多大。

接下来，Yamanaka 的研究组将会研究这些细胞如何分化成其他类型的细胞，并最终知道它们如何能够用做疾病模型和治疗工具。

来自威斯康辛的 Thomson 小组则独自确定了 14 种新的候选重组基因。通过系统的排除过程，他们最终也使用了 4 个基因 OCT3, SOX2, NANOG 和 LIN28，其中前两个和 Yamanaka 小组是相同的。Thomson 和同事利用的是胎儿皮肤细胞以及一个新生儿的包皮细胞。与 Yamanaka 小组相比，这项研究需要 1 万个细胞才能分离出一个 iPC 细胞系，但对实验而言已经足够了。利用新的程序重调技术，威斯康辛研究组发展出 8 个新的干细胞系，而且其中一些细胞系已经培养了 22 周的时间。该成果将发表在 12 月 21 日的《科学》杂志的印刷版上。

尽管这项成果将会加速新的细胞疗法的研究，但 Thomson 表示，还需要更多的工作来精炼这项技术，以防止被引入基因与细胞基因组发生融合。另外，为了确保治疗的安全性，还需要开发出能够移除病毒载体的方法。



# 万名研究者最新发现：多个新基因

生物通报道：由来自密歇根大学统计遗传学中心 (Center for Statistical Genetics, 生物通注)，意大利 Cittadella Universitaria, 美国家人类基因组研究院 (NHGRI), 英国布里斯托大学 (University of Bristol), 法国基因组研究院 (Institut Génomique, 生物通注) 等多国的，将近 2 万名研究人员组成的研究小组通过对整个人类基因组进行调查分析后，发现了多个影响血液胆固醇水平的新基因，并且提出了骨关节炎相关的常见遗传变异也许与人类身高存在重要关联。这一研究成果以多篇文章的形式公布在最新一期（1月 13 日）的《Nature Genetics》在线版上。

文章的通讯作者主要是来自密歇根大学的副教授 Goncalo Abecasis, 以及北卡罗莱纳州大学教堂山分校医学院的 Karen Mohlke 副教授。

对于第一项研究成果，Abecasis 认为可以帮助重新建立心脏疾病中，高密度脂蛋白胆固醇 (HDL, 生物通注) ——“好”胆固醇，和低密度脂蛋白胆固醇 (LDL, 生物通注) ——“坏”胆固醇之间的医学关系。他表示，“这是一项令人惊讶的发现，增加‘坏’胆固醇的遗传突变也与心脏病风险有关，而影响‘好’胆固醇的突变与冠状动脉疾病罹患风险却没有关系。也许这些结果就是告诉我们要重新思考这两种胆固醇与心脏疾病之间的关系。”

冠状动脉疾病 (Coronary artery disease, 生物通注)，即我们常说的冠心病，冠状动脉主要负责供给心脏血液，保证心脏有足够的营养。正常情况下，冠状动脉壁内层光滑，管壁有弹性，血液畅通无阻。但是血液中胆固醇和脂肪含量过高，就会在血管壁上留下脂肪条痕，日积月累变成一层坚硬的脂肪组织，腐蚀动脉壁，使动脉弹性减小，通道变窄，阻碍血液流动。这些沉积的脂肪组织看起来像是黄色的粥一样，也就是冠状动脉粥样硬化，

95%-99% 的冠心病由此引起。其他的病因还包括炎症、痉挛、栓塞、先天性畸形等。

遗传与环境的原因都会引起冠心病，这篇文章的第一作者 Cristen Willer 表示，“发现一些与胆固醇水平相关的新的基因区域也许有助于我们更进一步发展新型治疗方法”，“几乎所有我们发现的与高 LDL 水平有关的基因区域都与冠心病风险相关，这是一个标志性的研究结果，说明针对这些区域靶定基因的新药治疗也许能抑制冠心病，帮助人们增加寿命，增进健康。”

研究人员最初对 8800 个体进行了 200 万个遗传变异检测，最终聚焦到了 18 个基因的 25 个遗传变异上。并且他们也发现在这七个新突变中，两个影响 HDL，一个影响 LDL，其它三个则对甘油三酯起作用。

在第二项研究成果中，研究人员利用新基因范围内研究一种称为生长分化因子 5 (growth differentiation factor 5, GDF5, 生物通注) 的时候发现了一些与身高密切相关的突变，Mohlke 认为，“我们识别出的常见的变异与身高，及患上关节炎的风险都相关，这说明在身高的遗传机制与关节炎之间存在关联，

这可能与骨头生长与发育过程中出现的变化有关。”

骨关节炎 (Osteoarthritis) 是一种常见的关节炎，又称肥大性骨关节炎、退行性关节炎、变性性关节炎，增生性骨关节炎或骨关节病，均指一种病。这种病是常见一种关节病变，其患病率随着年龄而增加，女性比男性多发。骨关节炎以手的远端和近端指关节节、膝、肘和肩关节以及脊柱关节容易受累，而腕踝关节较少发病。

在这篇文章中，研究人员利用了一种全基因组分析方法，这是一种相对比较新的比较分析方法，能利用人类基因组序列，以及人类遗传变异图谱，通过像是身高这样的定量特征进行基因相关研究，研究人员分析了参与人员的全套 DNA，即基因组，寻找遗传变异的筛选型标记。

NIDDK 主任 Griffin P. Rodgers 评价这一研究道，“这是一项研究转向的例子，最初用于对比如糖尿病这样的特殊疾病进行的研究，现在获得了不同的，出乎意料的发现。”

(生物通：张迪)

原文检索：Nature Genetics ;Published online: 13 January 2008 | doi:10.1038/ng.76; Newly identified loci that influence lipid concentrations and risk of coronary artery disease [[Abstract](#)]

Nature Genetics ;Published online: 13 January 2008 | doi:10.1038/ng.74; Common variants in the GDF5-UQCC region are associated with variation in human height [[Abstract](#)]

#### 名词解释：

#### 1.高密度脂蛋白 (HDL)

所谓高密度脂蛋白 (HDL-C)，是可通过超速离心方法分离出来的一种血液脂蛋白。HDL 是血液中密度最高、颗粒最小的脂蛋白。HDL 是由多种物质组成，如胆固醇、甘油三

酯、磷脂和蛋白质等。利用超速离心技术分离出血中的高密度脂蛋白，然后，再测定其中的胆固醇，即为高密度脂蛋白-胆固醇

(HDL-C)，这是最为准确的测定 HDL-C 的方法。

不过，目前医学上常采用比较简便且省钱的免疫化学沉淀方法，直接测定 HDL 中的胆固醇 (HDL-C)。HDL-C 是临床检验的指标，它代表了血液中 HDL 的水平。近来，众多的科学证明，HDL 是一种独特的脂蛋白，具有明确的抗动脉粥样硬化的作用，可以将动脉粥样硬化血管壁内的胆固醇“吸出”，并运输到肝脏进行代谢清除。因此，HDL 具有“抗动脉粥样硬化性脂蛋白”的美称。

#### 2.低密度脂蛋白-胆固醇 (LDL)

所谓低密度脂蛋白 (LDL)，是利用超速离心技术能分离出的一种血液脂蛋白。低密度脂蛋白是由多种物质组成，如胆固醇、甘油三酯、磷脂和蛋白质等。我们利用超速离心技术分离出血中的低密度脂蛋白，然后，再测其中的胆固醇，即为低密度脂蛋白-胆固醇

(LDL-C)，这是最准确的测定 LDL-C 的方法。但是这种方法所需仪器非常昂贵，且需花费很长的时间，所以不适合在临幊上使用。目前医学上可通过沉淀方法直接测定 LDL-C，也可以采用公式计算出 LDL-C。

测定出的 LDL-C 浓度就代表了血中 LDL 的水平。LDL 中的胆固醇含量占其总重量的一半以上，同时血液的胆固醇主要是位于 LDL 中，占血总胆固醇 (TC) 的 60% 以上。所以，LDL-C 升高常同时有 TC 增高。由于 LDL 的颗粒比较小，即使血中 LDL 浓度很高，血液的外观也不会有明显改变。体内多余的 LDL 易沉积在动脉的管壁，会引起严重的动脉粥样硬化病变。

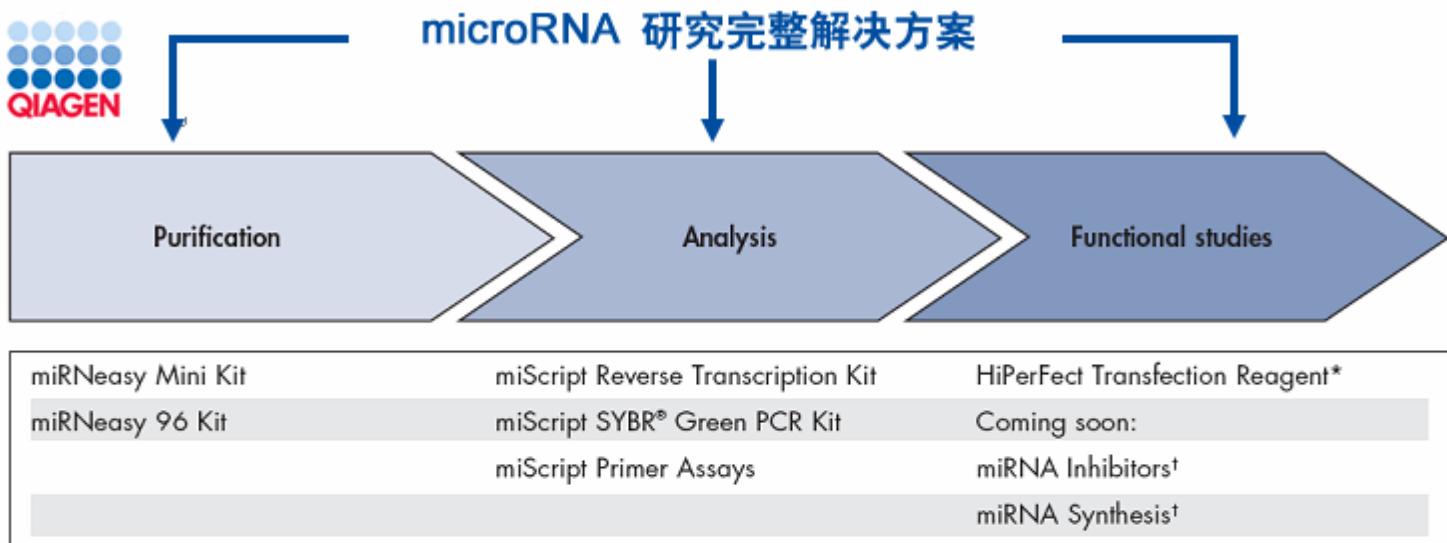
### 3.骨关节炎

又称肥大性骨关节炎、退行性关节炎、变性性关节炎，增生性骨关节炎或骨关节病，均指一种病。该病是常见一种关节病变，其患病率随着年龄而增加，女性比男性多发。骨关节炎以手的远端和近端指关节节、膝、肘和肩关节以及脊柱关节容易受累，而腕踝关节较少发病。骨关节炎的主要病理改变为软骨退行性变性和消失，以及关节边缘韧带附着处和软骨下骨质反应性增生形成骨赘，并由引起关节疼痛、僵直、畸形和关节障碍。

骨关节炎可以从 20 岁开始发病，但大多数无症状，一般不易发现。骨关节炎发病率随着年龄增长而增加，女性比男性多见，国外调查指出，有明显骨关节炎 X 线证据者，在 45-64 岁年龄组中，男性占 25%，女性占 30%；

而在 65 岁以上年龄组中，男性上升为 58%，女性上升为 65%。通过临床调查也证实，骨关节炎的发生率在 59-69 岁之间占 29%，而在 75 岁或以上的占 70%。据估计到本世纪末，我国进入老龄人口将达 1 亿。如借用国外调查提出骨关节炎发病率粗算，我国仅在老年人中的骨关节炎患者就可达 5 千万左右。

骨关节炎在临幊上，可分为原发性和继发性二类。原发性骨关节炎，目前所有的检查方法查不出病因的骨关节炎，通常所指的骨关节炎属于这一类；继发性骨关节炎是指在它各种病因疾病的基础上，诱发的病变，如创伤、类风湿关节炎，神经及内分泌及疾病等。这一类骨关节炎的病变比较局限，不伴发赫伯登结节。



### miRNeasy Mini Kit and miRNeasy 96 Kit

高效纯化含miRNA的总RNA或单独富集miRNA

- 适合各种细胞和动物组织，处理其他样品（如FFPE组织、细菌）的方法即将推出，
- 纯化>18 nt至200 nt的小RNA，可单独富集miRNA组分
- 纯度高，可用于northern、real-time RT-PCR、microarray等分析
- 选择灵活，提供离心柱和96孔板纯化方式

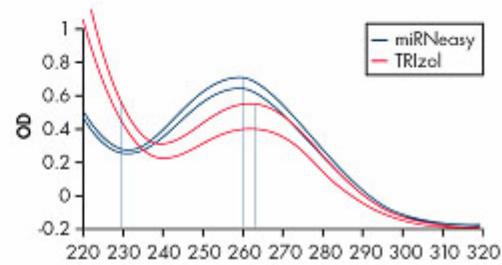


图1 高纯度RNA纯化，无苯酚污染

# 新突破：miRNA“卵生姐妹”

生物通报道：来自麻省理工与哈佛大学总医院（Broad Institute of Massachusetts Institute of Technology and Harvard University），德国欧洲分子生物学实验室，霍德华休斯医学院等多处著名研究机构的研究人员惊讶的发现了DNA执行功能的一种新方式，即两个互补形状“工具”能完成完全的不同功能。这一研究成果公布在2008年1月1日的《Genes & Development》杂志上。

领导这一研究的是MIT计算机科学与人工智能实验室的Manolis Kellis教授，第一作者为其博士后研究人员Alexander Stark。他们在这篇研究论文中发现一些miRNA基因并不仅仅来自DNA链中的一条，而是两条链都能编码RNA，从而得到的miRNAs能形成发夹结构，进入发育成成熟的miRNAs。Kellis and Stark在果蝇中发现了两种这样的miRNAs对，小鼠中发现了八对。

微小RNA(microRNA, 简称miRNA)是生物体内源长度约为20—23个核苷酸的非编码小RNA，通过与靶mRNA的互补配对而在转录后水平上对基因的表达进行负调控，导致mRNA的降解或翻译抑制。到目前为止，已报道有几千种miRNA存在于动物、植物、真菌等多细胞真核生物中，进化上高度保守。

反义转录，其产物就是与正义的RNA互补的反义RNA(或者称反义转录本)，反义RNA可以通过与正义RNA的互补结合实现转录后基因沉默，从而控制基因表达。在这篇文章中发现Hox miRNA位点的反义转录(antisense transcription)：miR-iab-4能产生一种新的miRNA前体——mir-iab-8，继而成为有调控活性的RNAs。这种异位表达(ectopically expressed)可以通过直接抑制Hox基因靶标产生同源异性表型(homeotic phenotype)。

Kellis表示，这种DNA双链都可以编码功能性RNA产物的方式“在之前从来就没有想象过”，但是这一研究结果证明确实存在这种方式，而且也说明在其它许多物种中，也许也存在这种双链DNA都编码重要功能的“配对组”。

这一发现建立在之前有关miRNA调控的一项同样令人惊讶的发现上：12月，Stark和Kellis报道了一个单miRNA发夹结构的双臂都能针对不同的靶标产生不同的，功能性miRNA。这两项发现说明单基因能编码产生4种不同功能——DNA双链的每条链都能产生一个发夹结构，而每个发夹结构能产生一种miRNA。

Kellis研究小组利用的是生物信息学手段进行多种生物基因组分析，即比较基因组学，通过这种方法他们在许多不同物种中发现了蛋白编码基因，RNAs, miRNAs, 调控元件和个体调控的靶标，Kellis表示，“这代表着在基因组生物学研究中一种新阶段，即不仅在实验室中，利用计算机终端也能得到重要的成果。”

同时在1月《G&D》上的，来自纽约约斯隆/凯德琳癌症研究中心(Memorial Sloan-Kettering Cancer Center)发育生物学系的赖教授(Eric C.Lai)也有相似的发现，

而来自哈佛医学院的 Welcome Bender 博士则证明了 miR-iab-4 的敲除揭示了一种从相反链转录的 miRNA 的存在,而且反义 miRNA 的缺失会引起一个 hox 基因的些轻微去抑制 (derepression)。这些在果蝇和哺乳动物中发现的额外的反义 miRNA 说明这种新机制也

能增加科学家们对 miRNA 功能的多样化的了解。(生物通: 张迪)

原文检索: GENES & DEVELOPMENT 22:8-13, 2008 ;A single Hox locus in Drosophila produces functional microRNAs from opposite DNA strands[[Abstract](#)]



## FuGENE® HD 转染试剂

### Measure the results of your transfection, not your transfection reagent.

继堪称转染试剂精粹的 FuGENE® 6 之后,罗氏应用科学部推出全新的 FuGENE® HD Transfection Reagent,全面提升转染实验结果,为您的实验助一臂之力!

- 显著提升其他转染试剂难转染的细胞株转染效率;
- 更低的细胞毒性,助您获得更多可靠的生理学数据;
- 通过延长时间和调整用量,可显著提高转染后的蛋白表达水平;
- 专利非脂体转染试剂,经0.1μm过滤灭菌的非脂质体转染试剂,不含任何动物成分来源的,在100%的血清中仍有活性,加快研究进展;
- 简便的操作步骤同时适用多种细胞,室温状态下依然稳定,满足大通量的实验操作需要。



*This is the first time I was able to successfully transfet my A431 cells after endless trials with competitor products. You definitely have a new FuGENE® HD customer!*

Urs Hagemann, Institute of Biology III,  
Albert-Ludwigs University, Freiburg, Germany

*Quick and easy to use, efficient and non-toxic for HT-29 cells. Now I am working with FuGENE® HD!*

Dr. Patricia Lagadec, PhD, INSERM U526,  
University of Nice Sophia Antipolis, France



#### FuGENE® HD 系列转染试剂问世10年

- > **成功转染800种以上的细胞株**,涵盖多种组织,包括原代细胞。
- > **超过10000篇以上的应用文献**,涉及广泛的应用领域。
- > 最小化试剂自身对基因表达的脱靶效应,强化生理学相关的**转染实验结果的可靠性**。

罗氏诊断产品(上海)有限公司  
罗氏应用科学部



上海市淮海中路1045号  
淮海国际广场12楼  
Tel: 021-2412 1000  
Fax: 021-2412 1188  
邮编: 200031  
邮箱: [china.as@roche.com](mailto:china.as@roche.com)

#### 北京办事处

北京市东长安街1号东方广场  
东方经贸城中二办公楼六层09室  
Tel: 010-8515 4100  
Fax: 010-8515 4188  
邮编: 100738

#### 广州办事处

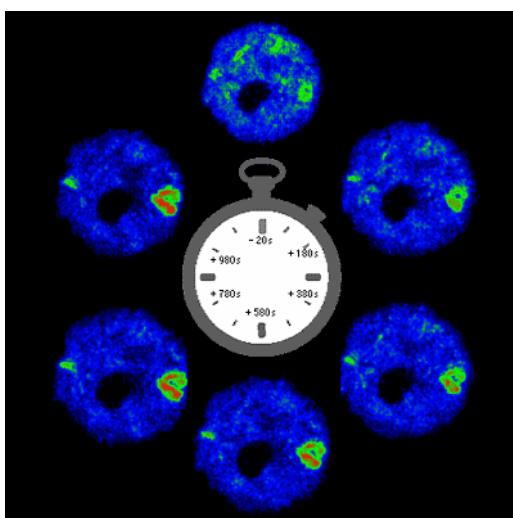
广州市环市东路403号  
广州国际电子大厦2701室  
Tel: 020-8732 3050  
Fax: 020-8732 3048  
邮编: 510095

# 挑战原理论：最新基因转录机制

生物通报道：来自康奈尔大学应用与工程物理学院（School of Applied and Engineering Physics，生物通注），分子生物学与遗传学系的研究人员发现基因转录的分子机器——将DNA片段的信息通过精巧的机制转换成mRNA链——在细胞核的特殊“转录制造厂”并不是固定的。相反，RNA合成酶II（RNA polymerase II，Pol II，生物通注）和其它关键分子能在一个活性基因位点处组装，无论这个基因处在什么位置。

这项研究由分子生物学与遗传学专家 John T. Lis 领导完成，文章第一作者是康奈尔大学在读博士姚杰（Jie Yao，音译，生物通注），参与研究的还包括应用物理学教授 Watt W. Webb，这一研究成果公布在12月28日的《Molecular Cell》杂志上。

利用一种新技术：多光子显微（Multiphoton microscopy）技术——这种技术由 Webb 发展出来，能获得活体高精度3D成像，研究人员观测了多线染色体（polytene chromosome，生物通注），这种染色体是由核内DNA多次复制产生的子染色体平行排列，且体细胞内同源染色体配对，紧密结合在一起，从而阻止了染色体纤维进一步聚缩，形成体积很大的由多条染色体组成的结构。



（活细胞多光子显微成像实时追踪热激活位点的转录激活）

研究人员激活了热激基因——用于保护细胞免受温度突然增高的伤害，之后从转录一开始实时追踪这些基因，并且研究人员也用荧光标记标记了 Pol II，用以追踪其在细胞核中的移动情况。

一些报道认为活性基因会移动到一个特殊的细胞核位置进行转录，但是在这篇研究论文中，康奈尔的研究人员认为基因的活性并不依赖于特定的位点，即所谓的“转录制造厂”。

Lis 表示，“在转录过程中，基因会解开，被聚合酶结合，但是他们并不会在一个单一的地方聚集”，相反，转录机器无论其位于细胞核的何处，都能在 called-upon 位点组装。

为了验证这一研究结果不仅适用与多线染色体，也适用与正常染色体，研究人员又利用了一种称为荧光原位杂交（fluorescence in situ hybridization，生物通注）的技术，这种技术可以帮助研究人员追踪组装好的细胞染色体中的特殊DNA序列。

在对共调控热激蛋白（即同时转录的基因，生物通注）位点的研究过程中，研究人员发现在热激基因还没有相互靠近之前，不同位点的共调控基因会在热激之后相互配对，而在多线染色体中，基因并不会移动到转录的某一单位位点。

进一步,研究人员利用光脱色荧光恢复技术(fluorescence recovery after photobleaching FRAP, 生物通注)发现随着时间推移, Pol II 开始随着活性基因新形成的“小室”循环工作。

目前 Lis 等人正在寻找转录过程中的其它分子, 检测是否具有相同的机制, “我们希望能发现体内新的途径,了解基因如何进行调控。”(生物通: 张迪)

原文检索: Molecular Cell, Vol 28, 978-990, 28 December 2007; Intranuclear Distribution and Local Dynamics of RNA Polymerase II during Transcription Activation 『Abstract』

#### 名词解释:

##### 1.多线染色体(polytene chromosome)

核内 DNA 多次复制产生的子染色体平行排列, 且体细胞内同源染色体配对, 紧密结合在一起, 从而阻止了染色体纤维进一步聚缩, 形成体积很大的由多条染色体组成的结构叫多线染色体。多线化的细胞处于永久间期, 体积也相应增大, 它存在于双翅目昆虫的幼虫组织内, 如唾液腺、气管等。

##### 多线染色体来源于核内有丝分裂

(endomitosis)。对幼虫果蝇唾液腺细胞的染色体分析发现比其他类型的细胞中的染色体粗 100 倍。在幼虫发育期间, 这些细胞停止了分裂, 但体积不断增大, DNA 继续进行复制, 以维持细胞的高分泌活性。复制的 DNA 链并不分开而是平行排列, 产生的巨大染色体中所含 DNA 链是正常染色体的 1024 倍。

##### 2.光脱色荧光恢复技术(fluorescence recovery after photobleaching FRAP)

研究膜流动性的一种方法。首先用荧光物质标记膜蛋白或膜脂, 然后用激光束照射细胞表面某一区域, 使被照射区域的荧光淬灭

变暗形成一个漂白斑。由于膜的流动性,漂白斑周围的荧光物质随着膜蛋白或膜脂的流动逐渐将漂白斑覆盖, 使淬灭区域的亮度逐渐增加, 最后恢复到与周围的荧光光强度相等。

细胞膜蛋白的标记方法有很多种。可以用非特异性的染料,如异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate,FITC)将细胞膜蛋白全部进行标记。也可用特异性的探针,如荧光抗体,标记特异的膜蛋白。膜蛋白一旦被标记就可用激光束进行局部照射处理,使荧光脱色,形成直径约为  $1\mu\text{m}$  的白斑。若是可移动的膜蛋白,则会因蛋白的移动,使白斑消失,若是不能移动的蛋白,则白斑不会消失。

根据荧光恢复的速度, 可推算膜脂的扩散速度为每秒钟为几个微米,而膜蛋白的扩散速度变化幅度较大,少数膜蛋白的扩散速度可达到膜脂的速度,大多数蛋白的扩散速度都比膜脂慢,还有一些膜蛋白完全限于某一个区域。正是这种限制,使膜形成一些特定的膜微区(membrane domain),这些微区具有不同的蛋白组成和功能。这实际上是膜蛋白不对称分布带来膜功能的不对称。

FRAP 技术也有它的不足之处。第一,它只能检测膜蛋白的群体移动,而不能观察单个蛋白的移动。其次,它不能证明膜蛋白在移动时是否受局部条件的限制。为了克服这些不足,发展了单颗粒示踪(single-particle tracking,SPT)技术,可以用抗体金(直径 15~40 nm)来标记单个膜蛋白,然后通过计算机控制的摄像显微镜进行观察。

附: 康奈尔大学(Cornell University)

康奈尔大学是一所私立大学。是教育明天和延伸知识前沿的领导者服务社会的学习协会。由 Ezra Cornell 和 Andrew Dickson

White 成立于 1865 年，1868 年，Morrill 大楼是 Ithaca 主校园的第一幢建筑物，今天该大学在拥有了 745 亩土地，260 幢主要建筑。

康奈尔人是世界信息技术的领导者之一。六、七十年代康奈尔大学的许多网络先锋通过电话线从一个研究机构到另一个研究机构宣传信息试验。

今天，康奈尔科学工程理论与模拟中心以拥有学术界最大、最快的超级计算机而自豪。每小时，成千上万的康奈尔人在 Ithaca 校园通过电子邮件同世界各地的人交流。学生在康奈尔大学图书馆考查自己的等级、综述材料、预登记所有来自公寓的学生。

康奈尔大学站点是一个提供人文、艺术、科学以及社会科学的指导站点。

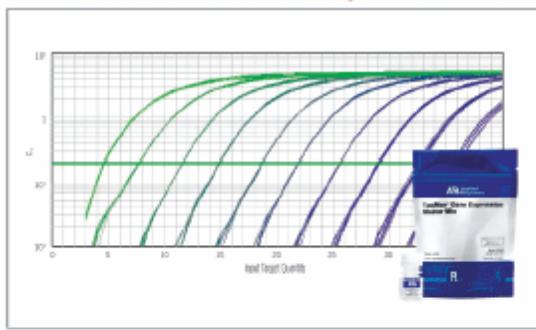
该大学在 Ithaca 校园有七个本科生单位

**完美表现  
创造每日成功**

**买二送一  
大促销**

### 最新上市的两款优化TaqMan Master Mix试剂

活动日期：2007.7.1-12.31

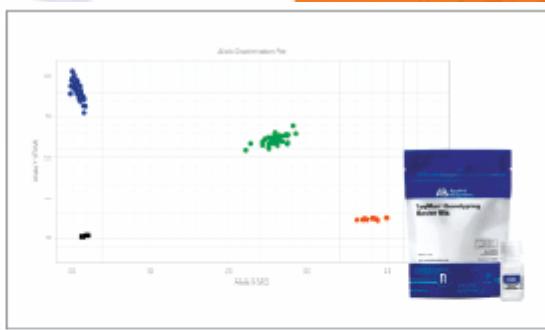


#### 基因表达通用混合试剂

##### TaqMan® Gene Expression Master Mix

提供准确及灵敏的定量品质

- 目标基因单拷贝的可靠检测
- 单次反应中的双重PCR对两个目标基因扩增
- 卓越的特异性以区分基因家族成员的差异



#### 基因分型通用混合试剂

##### TaqMan® Genotyping Master Mix

提供清晰及经济的识别效果

- 针对SNP和插入/缺失检测的配方
- 极好的簇集分辨率以获得明确的基因分型
- 基于高识别率的精确而可重复的结果

### 美国应用生物系统中国公司及办事处地址

如需了解本次活动更多详情，请咨询当地经销商或拨打我公司免费垂询电话：

上海/8008203939

北京/8008100192

广州/8008302001

# 新型干细胞：真正的神经干细胞？

生物通报道：来自著名的美国纽约斯隆/凯德琳癌症纪念研究中心（Memorial Sloan-Kettering Cancer Center，简称 MSKCC，生物通注）的研究人员发现了一种新型的神经干细胞，这种干细胞比较于之前已发现的神经干细胞具有更广阔的分化潜力。这一研究成果公布在《Genes & Development》杂志上。

领导这一研究的是纽约斯隆/凯德琳癌症纪念研究中心的 Lorenz Studer 博士，纽约斯隆/凯德琳癌症纪念研究中心是国际著名的癌症治疗中心，在癌症研究方面具有一百多年的历史，曾获选为 2001 年度美国最杰出癌症医院。

神经干细胞（neural stem cells, NSCs）一般是指存在于脑部的中枢神经干细胞（CNS-SC），其子代细胞能分化成为神经系统的大部分细胞。NCSC 为外周神经干细胞（PNS-SC），既可发育为外周神经细胞、神经内分泌细胞和 Schwann 氏细胞，也能分化为色素细胞(pigmented cell)和平滑肌细胞等。

一般而言，培养基中的 NSCs 能分化成神经亚细胞类型及神经胶质亚细胞类型，但是并不能分化成区域特异性神经细胞类型，在这篇文章中，Studer 博士及其同事却分离和克隆得到了一种神经 rosette 细胞（neural rosette cells, R-NSCs，生物通注），这种干细胞具有更广阔的神经亚型细胞分化潜力。

通过实验研究人员证明 R-NSCs 可以沿着 CNS（中枢神经系统，central nervous system, 生物通注）和 PNS（外周神经系统）细胞系进行分化，而且研究人员也识别出了只针对 R-NSCs 的生物标记，以及维持 R-NSC 类型的信号途径。

“我们的数据说明 R-NSCs 也许代表了第一种能分化成哺乳动物神经细胞中所有细胞多样性的神经干细胞，因此 R-NSCs 对于再生医学具有重要意义，而且也许能称为神经系统的‘胚胎干细胞等价物’”。（生物通：张迪）

## 名词解释：

### 1. 神经干细胞(neural stem cell, NSCs)

主要有两类：神经嵴干细胞（neuralcreststemcell, NC-SC）和中枢神经干细胞(CNS-SC)。NCSC 为外周神经干细胞（PNS-SC），既可发育为外周神经细胞、神经内分泌细胞和 Schwann 氏细胞，也能分化为色素细胞(pigmented cell)和平滑肌细胞等。

NSC 一般是指存在于脑部的中枢神经干细胞（CNS-SC），其子代细胞能分化成为神经系统的大部分细胞。

以往认为，中枢神经系统的神经元在出生前或出生后不久，就失去再生能力。但近年的一些研究表明，成年哺乳动物的脑组织仍可不断产生新的神经元，成人脑组织中同样存在 NSC，主要是在侧脑室下层(SVZ)和海马齿状回两处。

目前多使用基因转移的方法，建立神经干细胞系，即诱导 NSC 的细胞周期不断循环往复，从而阻止其分化过程。永生化的 NSC 具有较好的生物学特性，它们能自我复制并在体

外大量增殖，在移植人体内后仍具有多向分化潜能，同时可被转染并稳定地表达外源基因。

#### 附：美国纽约斯隆/凯德琳癌症纪念研究中心

纽约 Memorial Sloan-Kettering Cancer Center 成立于 1884 年，为美国最早专门为

癌症病患服务的医院，概分为 Memorial hospital，以临床服务为主及 Sloan-Kettering Institute 为研究中心。历年来一直为美国最好的癌症中心，而该院也以全世界第一的癌症中心(the best cancer center anywhere) 为口号。

## TaqMan® Gene Expression Cells-to-CT™ Kit



**在7分钟内完成简单的样本预处理：**

**无需RNA纯化步骤，即可完成整个Real-Time RT-PCR实验**

- **完整的解决方案——**

包括含基因组DNA去除的细胞裂解试剂、RT enzyme mix、buffer，以及最新的TaqMan® Gene Expression Master Mix在内优化的实验流程

- **快速——**

在7分钟内完成样本准备，包括DNA酶处理，反应在室温下完成

- **简单——**

样本裂解在反应管或是直接在培养板中进行

- **性能稳定、灵敏度高——**

以10-100,000细胞的起始样本进行基因表达分析；结果与使用纯化后的RNA所得到的结果一致

- **高效率——**

包含可从100个样本中进行500个real-time PCR反应足够的试剂

另有TaqMan® MicroRNA Cells-to-CT™ Kit、TaqMan® PreAmp Cells-to-CT™ Kit和TaqMan® Cells-to-CT™ Control Kit可供选择，具体信息请访问：[http://marketing.appliedbiosystems.com/mk/get/C2CT\\_MLANDING](http://marketing.appliedbiosystems.com/mk/get/C2CT_MLANDING)

#### 美国应用生物系统中国公司及办事处地址



爱普拜斯应用生物系统贸易（上海）有限公司

地址：上海南京西路1366号

恒隆广场II座16楼

电话：021-61371600

传真：021-61371700

邮编：200040

免费电话：8008203939

北京办事处

地址：北京市朝阳区东三环北路2号

南银大厦711室

电话：010-64106608

传真：010-64106617

邮编：100027

免费电话：8008100192

广州办事处

地址：广州市环市东路371-375号

世界贸易中心大厦南塔2905室

电话：020-87609229

传真：020-87750687

免费电话：8008302001



BIOOTECH

生物通

# 《自然》《科学》公布两项糖尿病研究大发现

生物通报道：糖尿病是一种非常复杂的综合症，是现代社会的一种重要的流行病。糖尿病主要分为Ⅰ型和Ⅱ型糖尿病，Ⅰ型糖尿病又叫青年发病型糖尿病，这是因为它常常在35岁以前发病，占糖尿病的10%以下，Ⅱ型糖尿病大多数为40岁以上的中老年人，50岁以上的人患Ⅰ型糖尿病很少。

近期，来自世界各国的科研人员在Ⅰ型和Ⅱ型糖尿病基础研究上获得了重要发现。分别发表在11月底的《自然》和《科学》杂志的两项研究鉴定出了新的Ⅰ型糖尿病基因和糖尿病患者体内胰岛素分泌失常原因。

## 《自然》：Ⅰ型糖尿病基因被确定

Ⅰ型糖尿病可能是由两个通常帮助身体抵抗感染的基因的错误版本导致的。英国剑桥医学院的Joanna Howson和同事认为，HLA-A和HLA-B基因的错误版本导致免疫系统摧毁胰腺中产胰岛素小岛细胞。通常，这两个基因编码MHC1的成份，MHC1是免疫细胞表面的一种蛋白质，能够帮助免疫细胞辨别敌友。

研究组发现，这类攻击小岛细胞的免疫细胞是被MHC1所活化。携带这两种变异数体可使其患Ⅰ型糖尿病的风险增加50%。这项研究的结果发表在《自然》杂志上。

美国费城儿童医院和蒙特利尔McGill大学的儿科研究人员确定出一种能增加儿童患Ⅰ型糖尿病风险的基因变异数体。随着一些研究人员不断找到新的导致糖尿病的基因，他们已经逐渐将眼光放在了为设计更好的药物和预防性措施提供科学基础上来。

此前，已经有四种Ⅰ型糖尿病基因被确定出来，而这项新研究则添加了第五个。在Ⅰ型糖尿病中，免疫系统攻击胰腺中的产胰岛素 $\beta$ 细胞，并使患者只能依赖经常注射胰岛素来

维持体内血糖水平。随着研究计划的进一步推进，这个联合研究组希望能够确定出与这种疾病有关的基因来，他们推测可能还有15到20个相关基因。这项研究的结果发表在7月15日的《自然》网络版上。

## 《科学》：瑞典糖尿病病因研究获新发现

瑞典研究人员最近在研究某些糖尿病患者体内胰岛素分泌失常原因过程中发现，一种关键细胞中的基因变异导致了胰岛素分泌失常，这一发现有望为糖尿病治疗开辟新路。有关研究成果发表在美国《科学》杂志上。

胰岛素是促进合成代谢的激素，也是保证人体内血糖处于正常水平的主要激素之一。一些人之所以患上糖尿病，就是因为体内负责分泌胰岛素的胰岛 $\beta$ 细胞不能正常发挥作用。

卡罗林斯卡医学院研究人员发现，人体内一旦需要胰岛素供应，一种名为InsP7的特殊分子便会发出增加胰岛素分泌的信号，而在Ⅰ型糖尿病患者的胰腺 $\beta$ 细胞中，负责调控这种特殊分子的基因发生了变异，从而导致胰腺 $\beta$ 细胞不能正常分泌人体所需的胰岛素。

研究项目的负责人奥洛夫·贝里格伦教授说，这一发现具有重要意义，它给糖尿病治疗带来新思路。人们今后可以开发能修复控制InsP7的基因的方法，从而促使胰腺 $\beta$ 细胞正常分泌胰岛素。（生物通雪花）



# 糖尿病重要突破： 利用蛋白质激发自身胰脏细胞合成胰岛素

如果说人体是一个舞台的话，蛋白质就是这个舞台上的最主要演员，由它们演绎我们称为“生命”的角色。

生物大分子在我们的生命中扮演着许多非常重要的角色，它们的台词就是我们 的基因所包含的编码信息。它们是动力发动机，调节生命的基本活动过程，控制体内无数的功能。许多酶产生或消耗能量，其它的则调节基因。

研究人员投入越来越多的精力将蛋白质用作治疗许多疑难杂症的药物研究中，因为蛋白具备影响细胞行为或阻断特定的分子信号的作用。

现在佛罗里达大学 (University of Florida ) 的研究人员设计了一种巧妙的方法让糖尿病小鼠中肝脏和胰脏的细胞大量产生胰岛素：注射一种天然存在的蛋白 Pdx1。这个成果为治疗 I 型糖尿病开创了一条新思路。Pdx1 的激活控制了胰脏细胞的发育，而正是这些胰脏细胞分泌胰岛素，来维持体内葡萄糖的含量稳定在安全水平。

佛罗里达大学医学院病理免疫和实验医学系的副教授 Li-Jun Yang 博士说，Pdx1 之所以如此特别，是因为它含有一段独特的氨基酸序列，这些序列起到“分子护照”的作用，是 Pdx1 自由进入细胞的通行证。

蛋白质治疗方法的设想是，重新设置人自身的细胞，使之能够产出激素，恢复人体正常调控血糖水平的能力，而无需使用具有潜在威胁的病毒来将相关的基因导入体内或移植其

他人的胰脏细胞。Yang 博士说，这个方法可以避免基因治疗经常会带来的副作用，也不用终生抑制免疫系统以免移植的细胞受到排斥。

Yang 博士说，我们将大剂量的 Pdx1 蛋白注射到糖尿病动物的腹部，想看看究竟有什么效果。Yang 博士也是 Transgeneron Therapeutics 公司的创始人和领导。Transgeneron Therapeutics 公司试图将 Pdx1 开发应用于糖尿病治疗。佛罗里达大学拥有 Pdx1 蛋白疗法的暂时性专利。“令人惊喜的是，处理过的老鼠表现出很好的效果。连续 10 天每天注射 Pdx1 蛋白到糖尿病动物中，它们的血糖水平在接下来的一周就会恢复正常水平。我们重复做了六次，每次都能够重现结果。”引人注目的是，这个蛋白能促进在胰脏中产生胰岛素的细胞，使得老鼠恢复健康。

Yang 说，现在有理由相信可以在较长的时间内维持血糖的稳定，意味着将来有望用偶尔注射 Pdx1 蛋白的治疗方法来代替每日注射胰岛素的方法。更为重要的一点是，重新设定并可以再生的细胞会自动合成和分泌胰岛素，维持血糖稳定在安全水平。

“现在，促进 beta 细胞再生成了研究的热点”，她补充说，“关键在于搞清楚如何触发葡萄糖调节的产胰岛素细胞进行再生。”(生物通:揭鹰)

# 实验室中创造出跳动心脏

生物通报道：心脏是人体最重要的器官，一项新的研究在实验室创造出一个跳动的心脏。这项技术将可能革新心脏和其他器官组织如何发育。

通过一种叫做整体器官脱细胞（decellularization，生物通注）过程，美国明尼苏达州大学心血管修复中心的研究人员对从死大鼠和猪心脏获得的心脏组织进行了培养，并将它们与活细胞一起“播种”。这项研究的结果发表在1月13日的《自然·医学》杂志的网络版上。

研究人员表示，这种思路可能用于创造移植用血管或整个器官。在美国，大约有500万人患有心力衰竭，并且有每年大约有55万新诊断病例。尽管研究人员在实验室中创造心脏组织的研究中已经获得了一些进展，但是要创造出一个能够模拟复杂的心脏结构的完整三维骨架却一直是一个难题。

研究人员表示，他们的研究暗示出脱细胞作用可能是一个解决方法，其基础是利用天然平台创造出一种生物人造心脏。

脱细胞方法是从一个器官移除所有细胞的过程，只剩下完整的细胞外基质（细胞间的框架）。在成功从大鼠和猪心脏移除掉所有细胞后，研究人员注射入了一种来自新生大鼠心脏的前体细胞，然后在实验室中进行培养。

试验的结果相当有前景。在用心脏细胞播种脱细胞心脏骨架四天后，研究人员观察到了收缩。8天后，心脏开始有泵的作用。研究人员相信这一发现将能够有助于增加可移植器官的供应。

研究人员也希望这种脱细胞过程能够用

于创造出新的可移植器官。因为一种新的心脏能够被受体细胞所填充，所以研究人员推测这种心脏组织被身体排斥的可能更小。而且，一旦被放置到了受体中，理论上这个心脏能够像被置换掉的心脏一样获得营养、被调节和再生。

在这项研究中，研究人员使用了未成熟细胞（干细胞）。尽管心脏修复是研究过程中的首个目的，但脱细胞可能改变研究人员进行器官加工的思路，并且为创造所希望的任何器官开启了大门。（生物通雪花）

## [相关成果：心脏干细胞疗法走近现实](#)

自从2000以来，人们对利用移植细胞治疗各种心脏疾病的方法有了不少了解。尽管目前仍然存在许多问题，但是在最新一期的CELL TRANSPLANTATION杂志上，公布了能够回答其中一些问题的研究（在第三届心脏病细胞治疗进展会议上公布）。在这一期的杂志上总共发布了11篇有关此研究领域的论文。

美国匹兹堡大学医学中心的心脏细胞疗法专家 Amit N Patel 博士（这一期杂志的主编）表示，许多问题仍然存在，例如什么类型的细胞最有效、使用剂量、传送方法和如何跟踪体内的移植细胞以及安全问题都需要解答。此后研究将积累更多的信息，并且会让心脏细胞移植越来越接近现实。

## [Patel 实验室的最新研究进展：](#)

## 改良的细胞存活药物

在发生心肌梗塞后,成体骨髓间充质干细胞(MSC)移植到心脏组织表现出强的发送信号和再生特性。但是,移植细胞的低存活率是研究人员苦恼的一件事。心脏病发作后很差的血液供应和急性炎症过程使移植细胞很难存活。心肌血管重建(TMR, Transmyocardial revascularization, 生物通注)是一个通过激光或其他方法在心脏组织中创造出通道来提高氧气供应的过程。

研究人员推测,利用TMR进行移植前处理,可能改善细胞存活能力和长期移植成功的微环境。

Patel 和同事利用一种新的传递系统在TMR产生的通道中疏散细胞,这种方法能够显著提高移植细胞的存活率。

## Skirball 心血管细胞疗法实验室: 干细胞去极化

近期的研究表明,心脏中存在干细胞。在这项研究中,研究人员加工了间充质干细胞(MSC),使其过度表达基质细胞衍生因子-1(SDF-1)。

他们的研究暗示,SDF-1表达在极性心肌梗塞发生时的延长能促使心脏内源干细胞的补充。这些细胞能够有助于增加收缩功能。

研究人员总结说,存在一个天然的、但效率低下的干细胞修复过程,该途径能够通过控制关键分子途径的表达来调节。这种低效修复能够对存活的心肌的电和机械功能产生重要影响。

干细胞是一类具有自我复制和多向分化

潜能的细胞。目前,尝试用于治疗心肌梗死的干细胞大致可分为两大类——胚胎干细胞和成体干细胞。胚胎干细胞主要包括胚胎心肌细胞和胚胎干细胞。成体干细胞主要包括骨骼肌干细胞、骨髓干细胞和外周血干细胞。

Soonpaa 等 1994 年首先证实了小鼠胚胎心肌细胞移植的可行性。1996 年,Li 等在大鼠心肌冷冻坏死模型上移植大鼠胚胎心肌细胞,术后 4 周,移植的胚胎心肌细胞出现了分化现象。但是,胚胎心肌细胞对缺血非常敏感,在体外不易培养和增殖。此外还有胚胎心肌细胞不易获得和伦理学上存在争议等问题。这些都限制了胚胎心肌细胞的应用。

成体干细胞与胚胎干细胞相比,成体干细胞容易从自体采集,避免了胚胎干细胞移植所面临的伦理学纠纷,而且自体移植不存在免疫排斥反应,适合临床应用,因而成体干细胞成为近几年干细胞移植领域的主要研究对象。

Koh 等 1993 年首先发现成肌细胞能向心肌细胞转化。2001 年,Jain 等发现成肌细胞移植能改善心肌梗死动物的左室功能。2001 年,Menasché 等首先将成肌细胞移植应用于临床。2003 年,Menasché 等又对 10 例心肌梗死伴严重心衰病人,在冠脉搭桥术同时进行成肌细胞移植。术后随访 10 个半月,病人的临床心功能提高,心肌收缩功能改善,但 4 例发生了室性心动过速。但是,2005 年 Dib 等纳入 18 例病人的临床试验显示,成肌细胞移植治疗缺血性心肌病病人,并未导致严重心律失常发生。因此,这类细胞移植还需在更多病人身上进行更长期的随访对照研究,这样才能彻底评估其安全性。



# 《科学》： 核蛋白也能够识别前列腺肿瘤

生物通报道：研究人员在小鼠的实验中发现，其体内的免疫系统可以用一个非常普遍的分子识别前列腺肿瘤。这种分子是一种体内所有细胞都含有的蛋白质，但只有它是存在于细胞肿瘤的表面上时，免疫细胞才会对它做出反应。

深入研究这种被称为组蛋白 H4 的蛋白质，如何激发免疫系统对恶性细胞做出反应的信号途径，可能会帮助研究人员改进免疫疗法的策略，即利用人体自身的免疫系统来对付肿瘤。某些类型的免疫疗法已在病人中试验过，但很多问题仍然没有解决。研究人员尤其想知道，肿瘤细胞是否会展示一个分子路标给免疫系统，“我是一个癌症细胞，摧毁我吧。”

霍华德休斯医学研究所（Hughes Medical Institute investigator）的研究人员 James P. Allison 和他的小组报道，他们在小鼠的前列腺癌找到这样一个路标。研究结果有可能用于改进免疫治疗。

Allison 表示，免疫系统对肿瘤尤其是早期肿瘤如何作出反应，我们知道之甚少。有两个大问题：肿瘤在该阶段是不可见的，还是可以被免疫细胞检测到？如果免疫细胞可以检测到肿瘤，它们可以对其作出反应吗？

Allison 的研究，发表在 2008 年 1 月 11 日的《科学》杂志上。他们发现，事实上免疫细胞可以检测到前列腺癌，至少在试验小鼠上是如此。然而，免疫系统只对肿瘤作出轻微的防御反应。

但 Allison 的研究小组鉴定的分子路标可能使加快微弱的防御反应更容易。

这个策略依赖于特定类型的免疫系统细胞--杀伤 T 细胞。上述每个细胞布满数以千计

的受体分子，能够识别不属于体内的分子。当 T 细胞识别外来分子后，它将破坏携带该分子的细胞。T 细胞接着进行复制，产生同类细胞，也作用于同样的外来分子。

1982 年，在德州大学奥斯汀分校的时候，Allison 发现 T 细胞抗原受体--叉样蛋白能够识别侵入细胞的分子信号。每个 T 细胞不同的受体由遗传和一个随机过程共同决定。体内可能有上万亿不同的 T 细胞受体，数目比人体内细胞的数量要大得多。

在正常组织，受体在 T 细胞的分布是随机的。也就是，一批 T 细胞会有各种不同的受体，但没有哪一个 T 细胞会比令一个更为丰富。

但在这项新的工作，Allison 的一个同事，Peter Savage 发现，小鼠癌变的前列腺腺体中包藏许多携带特定受体的 T 细胞。这意味着一个单一的 T 细胞已识别了恶性肿瘤，并复制了自身来进行防御。

Savage 在 20 个患前列腺癌的小鼠发现了 15 个小鼠含超量的受体。Savage 说，这意味着发生了一些调节反应，否则为什么正常小鼠没有这种现象？

在这一点上，该小组原来就知道小鼠的免疫系统能识别恶性肿瘤的分子路标。但他们不清楚这个路标是什么。

Allison 说，问题很明显，这些 T 细胞识别到了什么？T 细胞什么时候开始这项艰难的工作？

研究小组在一个培养皿将肿瘤细胞切开，然后再将它们与抗原提呈细胞和携带他们鉴定的受体的 T 细胞混合。Allison 说，T 细胞会生转变，表明我们确实得到了正确的受体。不过，在对照实验中，研究小组还发现，几乎任何类型的组织，如果它被切开，都会激活 T 细胞。

Allison 说，这是一个难解之谜。因为如果每个组织中都能激活 T 细胞，那就意味着分子路标不是癌细胞特异的。

研究构建只产生感兴趣的受体的小鼠发现，这个谜就更令人困惑了。这些细胞没有攻击任何组织。他们只攻击前列腺肿瘤，虽然作用轻微。

该小组研究决定重新进行培养皿的试验，将重点放在肿瘤细胞的特定部位。他们很快发现，仅仅是细胞核的分子激活它们的 T 细胞。

这个结果真是让人吃惊，因为一般情况下，核蛋白不会到达细胞表面，Allison 说。并且在动物活体中，T 细胞仅能识别在其他

细胞表面上的分子，他们无法识别深入到细胞核分子。

研究小组随后努力寻找能够激活 T 细胞的核蛋白。他们最终找到了组蛋白 H4。组蛋白是细胞核中大量存在的蛋白质，是包装所有细胞中 DNA 的蛋白。这一发现解释了为什么切开正常细胞，也可以激活 T 细胞，这是因为暴露出其组蛋白了。

该研究小组已鉴定了激活 T 细胞的分子路标，但他们提出另一个大问题，即组蛋白如何出现在肿瘤细胞的表面？Allison 说，每个细胞都有大量的组蛋白，而我们不知道为什么只有肿瘤细胞的组蛋白会出现在细胞的表面。

目前研究小组正在积极研究中前列腺和其他癌症患者的血液，以确定人们是否会像像小鼠一样，含有对组蛋白敏感的 T 细胞。

Allison 表示，如果有的话，我们在什么时候可以取出那些细胞，并设法激活他们？这些细胞已经识别了肿瘤。如果我们能够调动它们，也许会有治疗肿瘤的效果。

Allison 和他的同事们也在开展研究，以确定在血液中是否存在组蛋白 H4 活化的 T 细胞，可否用来作为早期前列腺癌诊断标记。(生物通报道，揭鹰)

找抗体？您怎能错过 Sigma！

2008-4-30止

新年有特价

抗体25%off

更有现货-1000多种抗体现货供应，4小时出仓！！

Sigma为您提供最优质的抗体，每一个抗体都经得起严格的应用检验。我们的每个抗体都有相关可重复的实验数据支持，包括网上的实验数据表和质控证书。

- 品种丰富—4000多种抗体，每天都有高质量的新抗体投放市场
- 质量可“考”—WB, IHC, IF, IP, ELISA... 应用范围一目了然



客服/订购热线：800-819-3336

客服/订购email：orderCN@sial.com



# 《自然》：首次发现线虫也睡觉

生物通报道：线虫是生物实验室中常用的一种模式动物，为生物学的发展贡献了很大的力量。一项新的研究显示，线虫可能是破解一个关键的生物学秘密的关键。这个谜团就是，我们为什么要睡觉。

来自美国宾夕法尼亚州大学医学院的研究人员在本周的《自然》杂志上公布说，线虫能够处于一种类似睡眠的状态。这项研究对了解睡眠的进化和目的以及动物的类似睡眠状态具有重要意义。

此外，这项研究的遗传分析工作为使用线虫来鉴定睡眠调节基因和睡眠疾病的药物靶标提供了新的线索。

文章的第一作者 David M. Raizen 博士与其他研究人员合作证实，线虫的发育期有一个行为静止的阶段。和人类在睡眠中很少对外界有反应一样，处于昏睡得线虫也是如此。在缺少睡眠的情况下，线虫也和人一样，能够更快、更深地入睡。

通过证实线虫也睡觉，Raizen 和同事不断证实了睡眠在自然界中的普遍性，而且还提出了有关睡眠目的假说。

因为昏睡时间与线虫生命周期中神经系统突触变化时间相一致，他们推测睡眠是神经系统弹性维持所需的一种状态。换句话说，为了让神经系统生长和变化，就必须有活动行为停止的时间。宾州的其他研究人员在动物中证实，突触变化发生在睡眠过程中，并且睡眠的剥夺导致这些突触变化的干扰。

另外，该研究组将线虫作物一个模型系统鉴定出一个调节睡眠的基因。这个基因编码一种蛋白质激酶，受小分子 cyclic GMP 的调节。

该基因虽然之前有过研究，但却不知道它在睡眠调节中也起到一定作用。研究表明，这种基因在调节人类睡眠过程中起到一定的作用，并且为研制新的睡眠疾病药物开辟了新路。研究的负责人表示，这项研究的发现为睡眠功能研究开辟了全新的路线。（生物通雪花）

相关新闻：

睡眠研究发现：鱼儿也赖床也失眠

美国科学家最新研究发现，虽然绝大多数鱼类没有眼睑而无法像人类一样闭合眼睛，但其实鱼不仅像人类一样睡觉，而且可能遭受与人类类似的失眠困扰。对鱼类睡眠机制的研究有助于解开人类自身睡眠的密码。

也赖床

来自加州斯坦福大学医学院的科学家们经过对斑马鱼的研究得出这一结论。研究论文发表于 16 日出版的《科学公共图书馆生物学》月刊。

论文作者横川东平（音译）说，研究人员利用红外线摄像机在黑暗中观察鱼缸里斑马鱼的活动，发现它们在夜里会停留在水面附近或鱼缸底部，不仅一动不动，还会把尾鳍低垂。

为证明斑马鱼尾鳍低垂时是处于睡眠状态，研究人员用微弱电脉冲刺激它们活动，随后观察它们是否会重回原先静止状态。结果发

现，斑马鱼受脉冲干扰后不久不仅恢复静止状态，还会把这种状态保持更长时间。

横川说，斑马鱼这种睡“回笼觉”的现象与人类睡觉被吵醒后继续蒙头大睡、有时还会赖床的情况相似。

也失眠

科学家们在研究过程中发现，鱼类不仅会睡觉，还可能患上失眠症。

研究人员选取一些带有变异基因的斑马鱼，把它们的睡眠状况与正常斑马鱼作比较。结果显示，带有变异基因的斑马鱼总体睡眠时间比普通斑马鱼少 30%，而且它们每次睡眠

持续时长也比普通鱼短一半。研究人员由此认为，这些带有变异基因的斑马鱼正遭受与人类类似的失眠困扰。

研究人员解释说，斑马鱼之所以会产生失眠现象，是因为体内一种神经肽感受器发生变异。这种神经肽由位于下丘脑的神经元分泌。下丘脑在大脑中负责控制食欲、睡眠等基本生理活动，其神经元分泌的神经肽能够对斑马鱼困倦与否产生影响。

人体内的同种神经肽异常也能引起人的睡眠紊乱。与鱼类不同的是，人体如果缺乏这种神经肽，则可能患上嗜睡症。



**BIO-RAD**

**Biomarker Discovery SELDI System**  
**Now Powered by Bio-Rad Laboratories**

ProteinChip SELDI系统用于从大量复杂生物学样品中快速获得蛋白质分子量图谱，发现Biomarker。它使用表面增强的激光解吸离子（Surface Enhanced Laser Desorption/Ionization）技术来捕获、检测和测量复杂生物样品中的肽段和蛋白质的分子量。

蛋白质芯片所独特的化学修饰表面使得该技术能够与其他基于分子量的分析系统相区别。SELDI技术提供了一系列进行不同表面修饰的芯片，从而获得基于芯片性质的谱图——把选择性吸附、洗脱和肽段与蛋白质分析这些步骤整合到了一个简单的平台上。复杂的生物样品，如血清、细胞裂解液等，可以直接上样到芯片表面，被不同化学修饰的芯片表面所捕获的不同蛋白质可以进入随后的飞行时间质谱分析。

SELDI蛋白质芯片系统实现了来自小样本的基于芯片的蛋白质和肽段图谱与一个能够用于高通量分析的平台的一体化。



- ◆ [SELDI系统的实验流程](#)
- ◆ [SELDI系统的特征和优点](#)
- ◆ [参加SELDI讲座和技术学习班](#)



**BIO-RAD**

**Biomarker Discovery SELDI System**  
**Now Powered by Bio-Rad Laboratories**

### 联系我们：

Bio-Rad CHINA Headquarter  
Tel: 021-64260808  
Fax: 021-64264988  
Email: [sales.china@bio-rad.com](mailto:sales.china@bio-rad.com)

# 过敏反应是如何被触发的

生物通报道：在以色列 Beth Israel Deaconess Medical Center ( BIDMC ) 的研究人员揭示，一组钙离子通道在引发炎症反应中起到至关重要的作用。这不仅解开了长期以来气喘和过敏症状的分子奥秘，同时也发现了肥大细胞的重要功能。他们的研究结果刊登在 2008 年 1 月发行的《自然·免疫学》上。

据该项研究第一作者、 BIDMC 病理部和哈佛医学院的研究人员 Monika Vig 博士说，在全身的组织中都发现免疫细胞组，但人们曾经认为肥大细胞只在过敏性反应中起作用。肥大细胞在胚囊中贮存炎性细胞因子及化合物（包括组织胺和肝素），形成“颗粒”。当肥大细胞遇到一种过敏原（比如说花粉）这些“颗粒”降解，释放出其内容物而引发过敏性反应。

不过，近几年，科学家已经发现了肥大细胞的众多其他角色，暗示了他们是一些生物反应的关键因素，而且还与从多发性硬化症和类风湿关节炎到癌症和动脉粥样硬化等疾病有关。

为了使肥大细胞行使功能，它们需要一个生物信号——具体来说，就是需要钙离子。钙离子进出细胞的方式是通过离子通道，即 CRAC 流 (calcium-release-activated calcium, 激活钙释放的钙)。去年，包括 Vig 在内的几个研究小组，鉴定了 CRACM1 为编码这个钙离子通道的确切基因。

她解释说，“随着鉴定这一长期以来难以捉摸的基因，我们能够构造一个敲除 CRACM1 基因的小鼠，希望这些动物可用来证明，它们对通常导致严重的过敏反应的各种刺激不敏感”。进一步实验表明，由于肥大细胞 CRACM1 基因被敲除，因此当它们接触到过敏原，无法触发过敏性反应。

哈佛医学院的资深作者、病理学教授 Jean-Pierre Kinet 说，这些发现提供了遗传证据，显示 CRAC 通道是肥大细胞活化所必需的。这个结果证明了如下概念：CRAC 通道的抑制剂应能对肥大细胞相关疾病，包括气喘，过敏性疾病起作用。

Vig 还说，因为肥大细胞也与其他几个损害人健康的疾病（包括多发性硬化，类风湿关节炎及癌症）有关系，因此将来 CRAC 通道的抑制剂，能用于减缓疾病的发展以及减轻疾病的症状。（生物通编译，揭鹰）



祝：广大新老客户新年快乐！万事如意！

## DNA 测序

起步于承担人类基因组计划和多项全基因组测序重大项目，诺赛基因的 DNA 测序平台是您的研究工作最可信赖的技术支撑和合作伙伴。世界一流的仪器设备与近十年对外测序服务经验的完美结合，辅助以标准化的流程和全程监控的质量保障和质量控制系统，诺赛基因的大规模、高通量、自动化的 DNA 测序平台致力于为国内外客户提供高质量、高性价比、高效的测序服务。

# 6000 多个基因控制着体重

生物通报道：在新一期的《BMC Genetics》杂志的网络版商，来自 Monell 中心的研究人员首次尝试估算出控制肥胖和体重的基因数量。他们的研究发现有超过 6000 个基因（大约占基因组的 25%）帮助确定一个人的体重。

研究人员表示，他们的研究结果暗示出，之前一些研究发现的每个与体重有关的基因只是数千个影响体重的基因中的一个而已，因此快速地解决体重问题是不可能的。

为了能够估计出影响体重的基因数量，Monell 的研究人员研究了 Jackson 实验室小鼠基因组数据库，寻找与敲除小鼠的体重有关的信息。

每个敲除小鼠都有一个特定的基因被失活。通过研究这些敲除小鼠与正常小鼠的差异，研究人员能够获得基因功能以及是否导致疾病发生的信息。小鼠能够提供有关人类疾病的有用信息，这是因为它们具有与人类相同的很多基因。

这种敲除方法非常有用，2007 年诺贝尔生理医学奖就颁发给了这项技术的发明者。敲除小鼠目前是所有行为和疾病小鼠模型的标准研究工具。

在 60% 的小鼠株中，敲除一个基因会导致小鼠无法存活。Monell 的研究发现，体重

情况在超过三分之一的可存活敲除小鼠中发生了改变；31% 使体重比对照轻，而另外 3% 则使体重增加了。

根据小鼠基因组中的基因数量进行推算，这意味着有超过 6000 个基因可能影响小鼠的体重。

研究人员评论说，这项研究的研究很尤其，它揭示出促进体重增加的基因数量是使体重减少的基因数量的 10 倍——这也可能解释了为什么增加体重比减肥更容易。

因为体重是许多疾病的一个影响因子，包括高血压、糖尿病和心脏病。这些新发现的意义在于超越了之前的肥胖和体重研究。影响这些疾病和其他疾病的基因敲除信息的公布将有可能对减少体重产生广泛影响。

这些发现还具有临床意义。医生和其他关心个性化医疗发展的专业人员需要拓宽他们的遗传学思路，要意识到许多基因一起作用才能决定疾病的敏感性。（生物通雪花）



# 华人科学家《科学》发布革新性新技术

生物通报道：来自亚利桑那州大学单分子生物物理中心 (Center for Single Molecule Biophysics, 生物通注)，传染病及疫苗研究中心 (Center for Infectious Diseases and Vaccinology) 等处的研究人员研制出了一种新型基因检测研究工具，有利于科学家们今后分析研究单个细胞内部基因表达的方式，以及蛋白活动的情况，开拓了基因检测的新思路。这一研究成果公布在最新一期的（1月13日）《Science》杂志上。

文章的通讯作者是亚利桑那州大学生物化学副教授严浩 (Hao Yan, 音译)，第一作者为化学和生物化学研究生柯勇刚 (Yonggang Ke, 音译)，参与研究的还包括单分子生物物理中心主任、物理学教授 Stuart Lindsay，以及生命科学学院的副教授 Yung Chang。

DNA 不仅仅是生命的密码，它还是制造纳米级构件和设备的通用元件。通过现代生物技术，我们可以制造出很长的 DNA 分子，上面排列着根据意愿选择的构建模块序列，这为 DNA 的应用开辟了广阔的新天地，而不仅限于自然界中生物进化的领域。在这篇研究报告中，研究人员就利用结构 DNA 纳米技术（指把生物分子组装成各种纳米结构，在从人类健康到纳米电子学的诸多领域都有应用），开发出了世界上第一种完全由自组装 DNA 纳米结构制成的基因检测平台。

这一平台工具的功能相当于现有的基因芯片，基因芯片通常用来同时检验成千上万个基因的突变情况或寻找疾病成因。但这一工具仅为纳米级，研究对象还不到人类头发粗细的几万分之一。

Hao Yan 表示，“结构 DNA 纳米技术的领域最近出现了令人非常激动的进展，即 Ned

Seeman、Erik Winfree 及其同事最先示范了用瓦片 DNA 自组装构建几何与拓扑纳米结构”，在 06 年 3 月的一期《Nature》封面上，Paul W. K. Rothemund 描述的一个新方法却打破了很多常规。虽然该方法忽略了序列设计、链的纯净度和链的集中比例，但它却能使所构建的 DNA 纳米结构比以前任何时候所构建的都更大、更复杂。这种从下往上“一锅烩”的方法用几百个短的 DNA 链来将一个非常长的链像订书针那样钉成二维结构，这是一项重要的 DNA 纳米阵列的研究成果。

在这篇最新的研究成果中，一种微型芯片能够深入单个细胞内部进行研究，而现有的基因芯片只能研究整组细胞，并且这项新技术使更为精密的分析成为可能，比如它能逐个检测细胞的基因变化，以及检测微量的 RNA。

目前这一技术仍然存在一些技术障碍，但是这种工具能在水溶性溶液中合成，制作成本低，因此具有广阔的应用前景。（生物通：万纹）

原文检索：Science 11 January 2008:  
Vol. 319. no. 5860, pp. 180 - 183 DOI:  
10.1126/science.1150082;Self-Assembled  
Water-Soluble Nucleic Acid Probe Tiles for  
Label-Free RNA Hybridization Assays 『[Abstract](#)』

下接 P25 页



# 解廷又一文章发表干细胞新成果

生物通报道：来自著名的美国密苏里州斯托瓦斯医学研究所（Stowers Institute for Medical Research，生物通注），堪萨斯州大学医学院解剖学与细胞生物学系的研究人员对目前了解得很少的干细胞与其周遍细胞微环境：niche之间的关系进行了描述，进一步揭示了干细胞的奥秘，这一研究成果公布在《Cell Stem Cell》杂志上。

领导这一研究的是斯托瓦斯医学研究所解廷（简介见后），第一作者为金制钢（Zhigang Jin，音译）和 Daniel Kirilly。在07年6月，解廷等人利用果蝇卵巢生殖干细胞（germline stem cells, GSCs）作为研究模型，证明干细胞功能中年龄依赖性的下降和其niche在干细胞整个衰老过程中扮演着十分重要的角色，通过检测了干细胞衰老调控的三个因素，发现并证明衰老过程是受到外在和内在因素调控的。

同时在那篇研究中，研究人员也发现干细胞与niche之间的关联也起到一定作用：强的关联可以延长干细胞的寿命，而降低关联则会增加干细胞衰老。

而在最新的这篇稳文章中，解等人证明分化缺陷型果蝇卵巢生殖干细胞（germline stem cells, GSCs）——与人类癌症干细胞相似，能在niche中竞争“打败”正常干细胞，这主要是通过侵占GSCs的niche空间，并不断增加对黏附性分子E-cadherin的细胞应答，将正常干细胞推出niche。

而且研究小组还发现，突变GSC竞争也需要E-cadherin和正常GSC分裂，并且E-cadherin的不同表达水平可以刺激GSC竞争。

Jin表示，“我们认为这种干细胞竞争机制

也许解释了为什么分化干细胞会被niche推挤”，“我们发现干细胞竞争就像一个质量控制体系，确保在niche里只有未分化的干细胞”。

解廷补充道，“这些发现为niche如何严格调控干细胞质量，以及癌症干细胞为了自我增殖如何侵入的新niche提供了重要的信息，而且这些发现也指出了一种将干细胞传递到靶向niche的新策略，这样能通过增加干细胞竞争长时间维持和产生功能性细胞。”（生物通：张迪）

原文检索：Cell Stem Cell, Vol 2, 39-49, 10 January 2008; Differentiation-Defective Stem Cells Outcompete Normal Stem Cells for Niche Occupancy in the Drosophila Ovary [\[Abstract\]](#)

附：

中国科学院第四批海外评审专家信息

解廷(Xie Ting)

性别：男

出国时间：1991

最后学位：博士学位

获得学位的时间：1996

最后获得学位的单位：Rutgers

University, New Jersey, USA

现职单位：斯德尔斯(Stowers)医学院

现任职务（英文）：Associate Professor

现任职务（中译）：副教授

从事的学科领域：生命科学与生物技术

专业：细胞生物学

主要研究方向：干细胞

斯托瓦斯研究所（Stowers Institute）

位于密苏里州堪萨斯市，这个 60 万平方

尺的校园里集合了这种先进设施，主要致力于通过进行细胞基本生命过程的研究，寻求尖端技术更有效的预防和治疗疾病。Stowers Institute 由 Jim Stowers 和 Virginia Stowers 这两位癌症幸存者捐赠的 2 亿美元资助成立。

### 上接 P23 页

附：亚利桑那州立大学的生物设计研究所（Biodesign Institute）把重点放在促进卫生保健、提供可再生能源和清洁我们的环境的创新、抢先制止全球传染病威胁以及增进国家安全的创新。利用集合了生物科学、纳米尺寸工程学以及先进计算技术的团队手段，研究所的目标是找到解决复杂全球挑战的方案，并让这些发现加速进入市场。该研究所还在每学期为超过 250 名学生提供手把手的实验室研究机会，从而教育未来的科学家。

*Sigma-Aldrich 特约之*

**2007 生命科学领域年度风云人物评选**

**正在进行…**

**投下您宝贵的一票>>**



The background features decorative elements like butterflies and stylized flowers.

#### ◎协办单位：



中国生物工程学会



中国农业科学院



《生物技术产业》



《生命世界》



# 中山大学等最新干细胞研究成果

生物通报道：来自南佛罗里达州大学医学院再生医学实验室，卡罗来那州立大学环境与放射性健康科学（Environmental & Radiological Health Sciences，生物通注），中山大学生命科学院，西班牙国立癌症研究中心（Spanish National Cancer Centre (CNIO)，生物通注）的研究人员惊讶的发现在胚胎早期分裂阶段，端粒长度的增加并不依赖于端粒酶的活性，而是存在另外一种循环机制，这对于了解干细胞及癌症干细胞的复苏，以及进一步研究干细胞机理意义重大。这一研究成果公布在《Nature Cell Biology》杂志上。

文章的通讯作者是中山大学国家教育部“长江学者奖励计划”特聘教授刘林博士，以及佛罗里达州大学医学院的 David L. Keefe 博士，前者早年毕业于北京农业大学（现中国农业大学），2003 年被聘为中山大学国家教育部“长江学者奖励计划”特聘教授，研究方向为干细胞转基因克隆及哺乳动物早期发育的分子机制。2007 年被聘为南开大学生命科学院特聘教授，兼副院长主管研究生工作。研究方向：在发育生物学和生殖生物技术领域，尤其是在最终能造福人类健康的胚胎工程和再生医学领域，进行基础科学及生物医学应用方面的研究，如哺乳动物（包括人类）卵子、胚胎及干细胞等生殖与发育相关的机理与技术工程研究。

组织中的干细胞具有自我更新的能力，当组织衰老时，可以产生分化细胞来代替死去的细胞。休眠的干细胞（quiescent stem cells）特异性的位于一些特殊的微环境中（specific microenvironments）。当需要的时候，他们开始增殖，并从这些微环境中出来。这个过程被认为是由微环境中细胞外的线索（extracellular cues）和固有的遗传程序控制。通过对小鼠模型的研究，Flores 等人发现，表皮的干细胞（epidermal stem cell）的活动

由端粒调节。端粒是染色体末端的一种核蛋白（nucleoprotein）。短的端粒抑制干细胞的活动（mobilization）。而合成端粒的端粒酶的过度表达（overexpression），促进干细胞的活动。端粒对干细胞功能的影响至少可以部分说明它们在衰老和癌症中的作用。

端粒酶（telomerase）的表达对于维持干细胞自我更新能力和复制潜能具有重要意义，雄性生殖系和干细胞中端粒酶活性高，但是在成熟卵母细胞和卵裂期（cleavage stage，生物通注）胚胎中，端粒酶活性降低或消失，之后胚泡（blastocyst）中又重新恢复活性。目前对于早期胚胎重排端粒长度的了解还很少。在这篇文章中，研究人员发现卵母细胞的端粒虽然比体细胞端粒短，但是在早期分裂发育阶段端粒长度会大幅度增加，而且孤雌生殖（parthenogenetical）卵母细胞的端粒长度也会增加，因此研究人员认为卵母细胞本身具有延长端粒的能力。

更重要的是，研究人员在端粒酶缺失的小鼠的早期分裂胚胎中发现端粒竟然也会延伸，这说明端粒酶在这些细胞中并不是端粒突然增长的原因。那么是什么导致了端粒增长呢？

通过进一步实验，研究人员发现，伴随着

端粒增长，能观察到端粒姐妹染色体交换（telomere sister-chromatid exchange，T-SCE，生物通注）延伸，与 DNA 重组蛋白 Rad50 和 TRF1 的同位化（colocalization），而在胚泡期这两者又会减少，同时伴随着端粒酶活性增加，端粒延伸减慢。

从中研究人员得出结论，在早期分裂阶段，端粒长度以一种基于重组的机制进行循环，而且自胚泡阶段起，端粒酶只是起到通过这种可变机制维持端粒长度的作用。（生物通：张迪）

原文检索：Nature Cell Biology - 9, 1436 - 1441 (2007) ;Published online: 4 November 2007; | doi:10.1038/ncb1664 ;Telomere lengthening early in development [Abstract]

#### 名词解释：

##### 1. 端粒

端粒是存在于真核生物线性染色体末端，由串联重复的短的 dsDNA 序列及其相关的蛋白所组成的 DNA 蛋白复合体。dsDNA 中的一条为富 G 链，以 5'→3' 指向染色体末端，比另一条互补链长 8 个~12 个碱基，这是端粒 DNA 分子的结构特征，是端粒酶识别工作的基础。

端粒既有高度的保守性；如原生动物、真菌、植物、动物序列都很相似；又有种属特异性，如四膜虫重复序列为 GGGGTT，草履虫为 TTGGGG，人和哺乳动物为 TTAGGG，等等。

端粒的功能除保证 DNA 完整复制外，还在维持染色体结构稳定（保护染色体不分解和染色体重排及末端不相互融合等），染色体在细胞中的定位（使之不随机分布）和引起细胞衰老等方面起着重要作用。众所周知，真核

DNA 是线性 DNA，复制时由于模板 DNA 起始端为 RNA 引物先占据，新生链随之延伸；引物 RNA 脱落后，其空缺处的模板 DNA 无法再度复制成双链。因此，每复制一次，末端 DNA 就缩短若干个端粒重复序列，即出现真核细胞分裂中的“末端复制问题”。当端粒缩短到一定程度时即引起细胞衰老，故端粒又称“细胞分裂计时器”。

##### 2. 胚泡（blastocyst）

哺乳动物特有的囊胚。桑椹胚细胞继续分裂增生，卵裂细胞的分泌导致细胞团间出现裂隙，后扩大成囊腔，称胚泡腔或囊胚腔，腔内充满液体。细胞分为二部分，构成胚泡外壁的扁平细胞层，称滋养层（trophoblast），可以从母体吸取营养，此层将形成胎盘的一部分。另一部分细胞成团在胚泡腔的一侧附着在滋养层上，称内细胞团（inner cell mass），将要形成胚体和一部分胎膜，有些哺乳动物胚泡的内细胞团不太明显，而真兽亚纲哺乳动物的内细胞团和滋养层区分明显。在子宫腔内随子宫液渗入胚泡内的量增多，胚泡腔及胚泡继续增大。

附：刘林，男，博士，教育部“长江学者”奖励计划特聘教授，国家杰出青年基金获得者。

电子邮件：[liutelom@yahoo.com](mailto:liutelom@yahoo.com)

1993 年获北京农业大学（现中国农业大学）动物生殖学与生物技术博士学位。1994 年至 1996 年赴英国剑桥 Babraham 研究所发育及信号传递系分子胚胎学实验室作访问学者及博士后研究，研究卵子孤雌激活，猪、羊胚胎干细胞、核移植克隆，精子注射。

1996 年至 1998 年在美国康奈尔大学，康州大学作动物科学系博士后研究，研究分子胚胎学、卵子激活的细胞周期调控、牛和兔的体细

胞核移植克隆和转基因。1998年至2004年，在美国布朗大学妇产科系生殖医学实验室，任研究员、助理教授，研究早期胚胎发育核质相互作用，老龄卵子及胚胎细胞凋亡的信号传递及分子机制、胚胎非侵入性显微操作，与年龄相关的卵子不育中线粒体和端粒的功能、核移植、成体干细胞和分化。1998年至今，美国海洋生物学实验室（MBL）兼职研究员。2003年被聘为中山大学国家教育部“长江学者奖励计划”特聘教授。研究方向为干细胞转基因克隆及哺乳动物早期发育的分子机制。2005年兼聘于南佛罗里达大学妇产科系访问助理教授。2007年被聘为南开大学生命科学院特聘教授，兼副院长主管研究生工作。研究方向：在发育生物学和生殖生物技术领域，尤其是在最终能造福人类健康的胚胎工程和再生医学领域，进行基础科学及生物医学应用方面的研究，如哺乳动物（包括人类）卵子、胚胎及干细胞等生殖与发育相关的机理与技术工程研究。

科研工作先后获得国家教育部博士点基

金，国家自然科学基金，英国海外发展中英技术合作基金，美国农业部，美国卫生部，康乃尔大学及康州大学博士后基金，布朗大学妇女儿童医院教师研究基金，中国卫生部部属（管）医疗机构临床学科重点、广州市科技计划项目、中国-加拿大国际合作项目等科研基金的资助。刘林教授于1996年在世界首次获得用细胞周期同步化在分裂期及用体外成熟卵子做核受体的三只胚胎克隆绵羊。首次发现小鼠端粒变短及功能异常导致卵子减数分裂异常。先后在包括 *Nature Biotechnology*, *Proc Natl Acad Sci USA*, *EMBO Reports*, *JBC*, *Developmental Biology* 等 SCI 收录杂志上发表学术论文近 50 篇。还有 40 余篇摘要发表在国际科学会议论文集中。先后被国际会议及国外高校邀请作报告 20 余次。曾获得多项奖励，包括 2003 年度美国生殖医学会辅助生殖技术奖。作为会员主要参加：美国科学促进学会（AAAS）；纽约科学院学会（NYAS）；生殖研究学会（SSR）；国际胚胎移植学会（IETS）；中国动物学会生殖生物学分会第五届理事会理事。



# 恭贺新禧，购物有礼

在2008年1月1日至2008年3月31日期间订购DHARMACON®产品达一定金额(按目录价计算)，即可获赠高档精美礼品，多买多赠！

- 一次性购买金额满¥4000元，赠送siRNA Buffer(工作液2ml或5倍浓缩液1.5ml)+¥200元代金券一张\*。



- 一次性购买金额满¥6000元，赠送价值350元的CASIO高档时尚手表一只或者花花公子皮具礼盒一个\*\*。



- 一次性购买金额满¥10000元，赠送价值600元的纽曼MINI MP4一个（2G内存）或者清华紫光UD300移动硬盘一个（80G内存）\*\*。



# 长江学者最新《细胞》 解开神经学一谜团

生物通报道：来自美国立卫生研究院国家神经疾病和中风研究院（the National Institute of Neurological Disorders and Stroke，生物通注），上海交通大学医学院神经学系等处的研究人员发现了轴突中线粒体移动性的一个新分子机制，由于调控线粒体在轴突上锚定的机制一直以来科学家们了解得很少，因此这一研究结果的突破对于阐明神经递质释放，细胞内膜结构转运和突触可塑性等分子机制具有重要意义。这一研究成果公布在最新一期的《Cell》杂志上。

领导这一研究的是美国立卫生研究院的盛祖杭教授，其 1987 年于上海第二医科大学获医学硕士学位，2000 年被聘为上海第二医科大学神经生物学教研室客座教授，2001 年被聘为二医大长江讲座教授。是二医大与美国 NIH 联合培养研究生计划的主要策划者和主持人。

神经元可以直接或间接（经感受器）地从体内、外得到信息，再用传导兴奋的方式把信息沿着长的纤维（突起）作远距离传送。信息从一个神经元以电传导或化学传递的方式跨过细胞之间的联结（即突触），而传给另一个神经元或效应器，最终产生肌肉的收缩或腺体的分泌，神经元还能处理信息，也能以某种沿尚未清楚的方式存储信息。神经元通过突触的连接使数目众多的神经元组成比其他系统复杂得多的神经系统。神经元也和感受器如视、听、嗅、味、机械和化学感觉器，以及和效应器如肌肉和腺体等形成突触连接。高等动物的神经元可以分成许多类别，各类神经元乃至各个神经元在功能、大小和形态等细节上可有明显的差别。

神经元跨越突触向另一神经元或效应器所释出的神经递质，便需先在高尔基体中浓缩包装在囊泡内，然后经轴突转送到纤维末梢。

线粒体广泛地分布于神经元的各个部分，在轴突末梢特别丰富，是神经元的能量供应中心。

因此线粒体在轴突中的适当分布对于神经功能而言是至关重要的，虽然三分之一的轴突线粒体是可以移动的，但是大部分依然是保持着不动的状态。然而调控线粒体在轴突上锚定的机制至今了解的并不清楚。

在这篇文章中，研究人员发现了线粒体锚定过程中，轴突靶向 Syntaphilin  
(axon-targeted syntaphilin, SNPH, 生物通注) 的重要作用——与微管相互作用。

Syntaphilin 是盛教授发现的三种 SNARE 结合蛋白之一（其它两种分别为 Snapin 和 SNAP-29，生物通注），Syntaphilin 的功能就像一个分子夹控制 SNARE 复合物装配中游离的 Syntaxin-1 的量，从而调节突触囊泡的胞吐。

轴突中的线粒体如果包含有内生性或外生性表达的 SNPH，就会失去移动性，研究人员将小鼠中 snph 基因沉默，结果发现带有移动的轴突线粒体比例增高，但轴突中总线粒体浓度降低。进一步研究发现在延时刺激 (prolonged stimulation, 生物通注) 过程中 snph 基因突变的神经细胞会表现出短时间 facilitation 的增强，这也许是受到突触前膨体

(presynaptic bouton, 生物通注) 中钙信号的影响。

这项研究发现了轴突中调控线粒体稳定性的一个新分子机制,并且这一机制对于神经突触的功能产生了一种生理学上的影响。(生物通: 张迪)

原文检索: Cell, Vol 132, 137-148, 11 January 2008; Docking of Axonal Mitochondria by Syntaphilin Controls Their Mobility and Affects Short-Term Facilitation [Abstract]

#### 名词解释:

##### 1. 突起

一般可由胞体延伸出两种突起即树状突起(简称树突)和轴状突起(简称轴突)。

①树突。从胞体发出的多根而且多分枝的突起。大多数神经元具有多根树突。粗树突的结构和胞体相似,含有粗糙面内质网、线粒体和平行排列的神经元纤维。有些神经元树突的分枝上有树突棘,后者也可与其他神经的末梢接触形成突触,树突的广大面积是神经元接受信息,并处理信息的主要区域。信息以电信号的形式在树突上扩布并被整合。

②轴突。由胞体发出的单根突起,除了接近末梢处之外,各段落之间的粗细无明显差别。它以直角方向发出侧枝。轴突的末梢反复分枝而形成终末,终止于另一神经元或效应器,与它们形成突触。轴突被髓鞘和神经衣或单被神经衣包裹而形成神经纤维。脊椎动物的神经纤维依髓鞘之有无可分为有髓纤维和无髓纤维。轴突内的胞质叫轴浆,内含细长的线粒体、光滑内质网以及纵行排列的微管和神经丝。轴突的功能主要是传递快速的电信号,并在胞体与末梢之间输送物质。轴突的髓鞘是许旺氏细胞膜螺旋式地围绕轴突形成的极层。在两个许旺氏细胞之间有一小段无髓鞘的间隙

(约1微米),称做郎维埃氏结。两结间的距离在不同的神经纤维和不同的动物之间有很大的差异,其变动范围在50~1500微米之间。这是神经冲动在轴突上快速跳跃传导的结构基础。

③轴浆运输。某些细胞器和化学物质沿神经突的运输,它既见于轴突也见于树突,由于先在轴突发现,故称为轴浆运输,轴浆运输有顺向与逆向两种:顺向即物质从胞体运到末梢;逆向即从末梢运向胞体,顺向运输远比逆向的量多、速度快。被运输的物质有些是胞体合成的,有些是纤维或末梢从环境中摄取的。轴浆运输有维持存活的作用,它也有维持纤维末梢正常的突触传递的作用。

#### 附: 盛祖杭教授简介



1. 个人简历: 1987年于上海第二医科大学获医学硕士学位, 1993年于美国宾夕法尼亚大学医学院分子生物化学和神经科学专业获博士学位, 1993-1996年在美国华盛顿大学医学院药理系做博士后研究。1996年起任美国国立健康研究院(NIH)神经突触功能研究室主任, 首席研究员。2000年被聘为上海第二医科大学神经生物学教研室客座教授, 2001年被聘为二医大长江讲座教授。是二医大与美国 NIH 联合培养研究生计划的主要策划者和主持人。

2. 研究方向: 主要研究神经递质释放的

分子机制及调节,突触蛋白在神经元内的转运与定位,以及细胞内膜结构转运等有关神经细胞生物学重要领域。其实验室研究工作处于国际领先地位。

1996年12月起,盛祖杭教授任美国NIH国立神经失调和中风研究所(NINDS)研究员。其实验室主要研究神经递质释放及其调节的分子机制。实验室研究的主要目标是阐明神经突触囊泡释放及其调节的分子机制。最近的研究项目是通过分子、生化和电生理技术鉴定神经递质释放中涉及的新的成分。采用酵母双杂交技术,我们分离出三种SNARE结合蛋白,分别叫做Snapin、Syntaphilin和SNAP-29。通过体外结合试验、免疫沉淀反应、突触小体组份分析、共转染、原位杂交、免疫细胞化学染色和体内功能研究,该实验室已证明这三种蛋白参与或调节神经递质释放过程。Snapin通过增强SNAREs和Synaptogamin之间的相互作用调节神经突触

的传递。Synaptogamin是钙离子依赖性胞吐中的关键分子。Syntaphilin的功能就像一个分子夹控制SNARE复合物装配中游离的Syntaxin-1的量,从而调节突触囊泡的胞吐。虽然SNAP-29主要在膜转运中起作用,但是它也是通过和Syntaxin-1相互作用调节神经突触的传递。该实验室的生化研究结果还表明,PKA-依赖性的磷酸化作用可进一步调节Snapin蛋白的功能,这说明Snapin蛋白可能是突触前PKA的靶点,它通过cAMP-依赖的信号转导途径来调节递质释放。

应用已取得的成果,结合更新的体细胞和生殖细胞遗传研究,一定能揭示SNARE复合物的调节途径,以及在囊泡搭靠和融合机制中其它的蛋白间相互作用,从而阐明神经递质释放和突触可塑性的分子机制。

3. 科研成果: 近年主要论文:
4. 联系方式:
- E-mail: [ShengZ@ninds.nih.gov](mailto:ShengZ@ninds.nih.gov)
- Web site: <http://intra.ninds.nih.gov>


热烈庆祝韩国著名生物公司
**BIONEER**
  
正式登陆中国市场

### 实时定量PCR仪简介

*Exicycler®* 96实时定量PCR仪将热循环模块和Bioneer独创的新型光学组件结合起来,可以精准地实时检测荧光的变化。

该产品的系统与软件适用于各种检测应用。例如基因定量、病原体检测、验证Micro-array的分析结果、细菌或病毒的计数以及通过溶解曲线分析反应产物和基因分型。



### 产品优势

- ※ 高灵敏度和五通道光路检测分析系统: 带有可变激发光源, 可检测五类不同的荧光染料, 灵敏度高。
- ※ 高通量: 均质化照明, 最多可同时对96个样品进行荧光检测。
- ※ 操作简单: XP操作系统, 菜单设计直观, 非常易于学习和掌握。操作方便, 兼容性好。
- ※ 数据处理简单: 系统软件功能强大, 具有板设置向导功能, 可实时动态观察反应过程, 自动分析工具使数据处理化繁为简。
- ※ Ct值差异最小化: 无论在模块的中央还是在其边缘的孔进行实验操作, 其Ct值差异不大于0.5个循环。
- \* 更多仪器实验结果图请参考Bioneer中文网站: <http://www.bioneer-bj.com>



# 荧光猪：展示生命科学的炫丽色彩

2008年1月7日，2头具有绿色荧光遗传特征的小猪在哈尔滨诞生，为即将告别的猪年增添了一抹特别亮丽的颜色。这两个引起轰动的可爱小猪，是东北农业大学的刘忠华教授主持的转基因克隆猪课题的研究成果。刘忠华教授将来自的绿色荧光蛋白（Green Fluorescent Protein, GFP）基因注射到母猪的子宫中，在114天之后的2006年12月24日，产下3头绿色荧光蛋白转基因克隆猪。经过一年的精心护理，这3头克隆猪中的一头在1月7日首先顺利地生产11头小猪，其中6头公猪，5头母猪。具有绿色荧光特征的两头小猪分别是一公一母。

## 绿色荧光猪是如何研制出来的？

绿色荧光克隆猪的繁育过程类似于克隆羊多利的诞生，都是基于相同的原理：动物高度分化的细胞核含有全套的个体遗传信息，保持着全能性，有发育为完整个体的潜在能力。利用这个原理，研究人员先在猪的体细胞中植入可合成绿色荧光蛋白质的基因，然后取出含转基因的细胞核，再将其植入猪的未受精卵（已剔除细胞核）中，制成胚胎，最后植入猪的子宫内。经过正常的发育，最终母猪就能产下绿色荧光转基因克隆猪。未受精卵的作用是提供必要的营养物质和发育信息，而转基因细胞核则决定了最终克隆猪的表型。

尽管原理并不复杂，但要成功克隆转基因猪并不是一件容易的事。主要的难点在于，将细胞核注入未受精卵后的成活率很低，大部分克隆的胎儿面临流产，即便能够出生，也有百分之五十以上的克隆动物因器官发育不全出

现早期夭折。据已发表的资料显示，转基因猪注射胚胎的成活率，在0.16%--0.89%之间。2006年，台湾大学的一个研究团队宣称将转基因猪的成功率提高到1.13%，并且全部能够表现所转基因的功能。

为什么有些小猪会发出绿色荧光？而另外一些不能？

刘教授在荧光猪中使用的GFP基因，是从一种特殊的水母中分离得到的报告基因。在转基因生物中，GFP基因的表达产物绿色荧光蛋白在紫外光的激发下，可发出明亮的绿光，非常方便地进行直观鉴定，因此在分子和细胞生物学中有非常广泛的应用。

荧光猪不仅仅只有蹄子，舌头等几个部位可以发出荧光，它们其实是全身都可以发光的。但是由于有毛发的遮蔽作用和蛋白堆积的量的不同，在紫外线灯的照射下我们能用肉眼看到的只有小猪的蹄子、鼻子和舌头发出绿色的荧光。刘忠华说，如果在荧光显微镜下观察，则可以观察到全身的细胞都具有荧光表达。

至于今年1月初新生的11头小猪，仅有2头遗传了母猪的绿色荧光特性，则是因为孟德尔遗传法则的分离和自由组合规律。在转基因母猪中，每一个细胞只有一份染色体含绿色荧光蛋白基因，另一份则没有，因此在产生卵细胞的过程中染色体发生分离，形成含有或不含有GFP基因的卵细胞。这两种卵细胞具有均等的机会与含有或不含有GFP基因的普通精细胞结合，因此最终得到的受精卵含有或不含有GFP基因的比例为1:1。绿色荧光的转基因母猪与普通公猪交配，在有足够的数据具有

统计意义的后代当中，小猪身上带有绿色荧光的几率应达到50%。因此，在刘教授得到的11头小猪中，理论上应该有5~6只具有绿色荧光的特性，实际上只有2头，是因为总数较少的原因，所以仍然可以认为是正常合理的。

### 荧光猪的成功遗传有何意义？

#### 基础研究价值

提取绿色荧光蛋白转基因猪的骨髓、血液及其他不同组织样本并分离出其中的成体干细胞（也表达绿色荧光蛋白），就可以将此作为干细胞分化、增殖以及修补等再生医学研究结果的标示物。绿色荧光蛋白转基因猪研究某种疾病，特别是心血管疾病的模型。

#### 外科移植研究

猪具有与人相似体积的器官，与人的组织相容性也较好，而且来源丰富，因此一直是外科移植的研究热点。但问题是，移植的猪器官，例如烧伤后使用的异种皮，会激发人体的急性免疫排斥反应。这是由于猪的器官含有糖蛋白这样的抗原决定簇引起的，因此构建不具备糖基化能力的转基因猪，则可以克服这个难题。

#### 用作生物反应器

在猪的血液或乳汁特异地表达具有经济效益的蛋白质，或者促进生产某种物质的酶，便于收集、提纯用做药物或工业用品。

#### 改进猪肉的质量

如果植入的不是绿色荧光蛋白，而是抑肌基因，也就是去除了抑制肌肉生长的基因，让猪的肌肉生长不受抑制，可大大提高猪肉的生长速度，提高养殖的生产效率。

还有其它人研究过转基因克隆猪吗？除

了猪，还有什么动物成功实现转基因克隆？

1996年7月5日，震惊世界的克隆羊多利产生。随后，全世界各地的科学家进入疯狂的“克隆时代”，包括猴、猪、猫、牛和兔子等在内的许多的动物相继克隆成功。以此同时，人们也希望通过体细胞克隆的方法，获得具有稳定遗传特性的转基因动物。近年来，在转基因克隆动物中取得的重要成就包括：

2007年12月27日：韩国科学家宣布研发出一种生产克隆猪的更加有效的方法，利用猪骨髓中提取的干细胞来获得克隆晶胚，克隆胚胎的存活率提高到20%。

2007年12月12日：韩国科学技术部发表声明说，韩国科学家用转荧光蛋白基因技术克隆出能“发光”的猫。

2007年9月14日：上海交通大学医学院附属新华医院发育生物研究中心与中国农业科学院北京畜牧兽医研究所国家畜禽分子遗传育种中心合作，功获得世界首例绿色荧光蛋白的转基因克隆兔。

2007年8月：第一头拥有阿兹海默症（早老型痴呆症）基因的小猪将于今年8月在丹麦出生。

2006年3月27日：美国科匹兹堡大学医学院华裔科学家戴一帆领队的研究人员繁育出富含OMEGA-3脂肪酸的猪，并检验在其体内增加omega-3含量对抗击心脏病的功效。

2004年6月21日：本静冈县中小家畜实验场宣布，该实验场和北里大学合作，成功克隆出了体内含有GFP基因的转基因猪。(生物通，揭鹰)

# 来自试剂盒的安全性警告

生物通编者按：

我们的生物实验室存在多少危险？

生物实验对我们操作人员造成了怎样的危害？

实验室工程菌外流对我们环境的影响有几多？

这些平时并不引起我们注意的隐患也许会给我们自身健康，或者环境带来长远的影响，因此生物通网站联合《遗传》、《中国生物工程杂志》、《生命世界》杂志开展2007赛默飞世尔中国生物实验室安全现状调查活动，提出警示，珍惜生命！此次活动的现状调查报告将发于相关部门，提出宝贵意见的读者将有机会获得精美礼品。

2007赛默飞世尔中国生物实验室安全现状调查向广大读者征集投稿，及招集外派观察员和生物实验室安全顾问，详情请见  
[http://www.ebiotrade.com/custom/ebiotrade/focus\\_2007/070911/Collection.htm](http://www.ebiotrade.com/custom/ebiotrade/focus_2007/070911/Collection.htm)。目前已有许多热心读者进行了投稿，以及表示希望成为外派观察员，十分感谢他们对于此次活动的支持，我们将陆续建立各地外派观察员联系档案，发放聘书以及礼品，希望有更多同样具有社会责任感的实验室人员参与到此次活动中来！

在此次赛默飞世尔中国生物实验室安全调查活动中，我们惊讶的发现许多生物实验室存在严重的污染问题，而其中又以废液废品的处理为最，大部分实验室在进行生物实验过程中产生的大量高浓度含有害微生物的培养液、培养基，未经适当的灭菌处理而直接外排，而

且许多实验室的下水道与附近居民的下水道相通，污染物通过下水道形成交叉污染，最后流入河中或者渗入地下，时间长了将造成不可估量的危害。

由于目前虽然国家环保总局将各类实验室纳入环保监管范围，但是许多实验室仍然处于监控真空状态，缺乏规章制度、缺乏实验室污染控制的经费投入、缺乏对实验室的监管等各种原因导致了实验室成为了污染源，对环境造成了威胁，这些种种都需要社会各界的共同关注。

生物实验室产生的废液污染主要是化学性污染和生物性污染，另外还有放射性污染。我们经常认为实验室中的有机试剂并不直接参与发生反应，仅仅起溶剂作用，因此就直接把消耗的有机试剂以各种形式排放到周边的环境中，排放总量大致就相当于试剂的消耗量，然而日复一日，年复一年，这样累积下来的排放量就十分可观了。

像是我们经常在实验中用到各种的试剂盒，比如蛋白纯化分离，胶回收试剂盒等，其实许多都在说明书中标示了某某成分是对环境有害的，甚至是对于某类生物具有剧毒性，并指出会引起长时间环境副作用，然而许多实验室对这些废液污染置若罔闻，认为在大环境里稀释一下就没问题，殊不知经年累月的积累对于环境的压力会越来越大，直至最后出现严

重后果也就无法挽回了。

因此这些生物类的废物应根据其病源特性、物理特性选择合适的容器和地点，专人分类收集进行消毒、烧毁处理，日产日清。一般液体废物可加漂白粉进行氯化消毒处理。固体可燃性废物分类收集、处理、一律及时焚烧。固体非可燃性废物分类收集，可加漂白粉进行氯化消毒处理，满足消毒条件后作最终处置。

1.一次性使用的制品如手套、帽子、工作物、口罩等使用后放入污物袋内集中烧毁。

2.可重复利用的玻璃器材如玻片、吸管、玻瓶等可以用 1000-3000mg/L 有效氯溶液浸

泡 2-6h. 然后清洗重新使用，或者废弃。

3.盛标本的玻璃、塑料、搪瓷容器可煮沸 15min. 或者用 1000mg/L 有效氯漂白粉澄清液浸泡 2-6h，消毒后用洗涤剂及流水刷洗、沥干；用于微生物培养的，用压力蒸汽灭菌后使用。

4.微生物检验接种培养过的琼脂平板应压力灭菌 30min，趁热将琼脂倒弃处理。

5.尿、唾液、血液等生物样品，加漂白粉搅拌后作用 2-4h，倒入化粪池或厕所。或者进行焚烧处理。

## 精彩好礼，更多惊喜，就在 ep-points

为了感谢您对 **ep-points 分行中国** 的关注与参与，我们在保留原有受欢迎礼品的基础上又为您增添了好几款精彩礼品：

### 值得信赖的 Eppendorf 产品：

- Multipette plus 手动连续分液器
- ep Dualfilter T.I.P.S. 双滤芯吸头



### 时尚新品：

- 硅胶软键盘
- 功夫小子笔筒
- 维氏瑞士工艺卡
- Eppendorf T 恤衫
- 当当购物卡
- 卡路里电子跳绳
- Yonex 羽毛球拍
- Sony PSP-2000 便携式游戏机



如需了解详细情况，请继续关注 [www.ep-points.com](http://www.ep-points.com)，**ep-points 分行中国** 期待您的热情参与，更多好礼，更多乐趣！



# 抗癌海洋物质关键信息被发现

生物通报道：来自美国加州大学圣地亚哥分校 Scripps 海洋学研究所海洋生物医药实验室取得了一项意外的发现。该发现使研究人员获得了一种海洋生物体内基础生物过程的关键信息。而这种海洋生物能够制造一种目前正在检测治疗人类癌症的天然产物。这一发现将可能使这种天然产物在治疗人类疾病方面产生新的价值。

由 Bradley Moore 领导的研究组发现海洋细菌 *Salinispora tropica* 中一种叫做 SalL 的酶。这种海洋细菌是 Scripps 的研究人员在 1991 年鉴定出来的。他们的最新研究成果发表在最新一期的《自然·化学生物学》杂志上。

研究人员还鉴定出这种海洋细菌整合一个氯原子的一种新途径。已经知道氯是触发它的强大的抗癌天然产物生产的关键成分。之前知道的活化氯的方法是通过以氧为基础的方式。这种新的方法则是利用未氧化的氯的策略。

研究人员表示，这时一个非常意外的途径。目前知道的有超过 2000 种氯化天然产物，这项研究则是通过这种途径吸收氯的第一个例子。

**Salinispora tropica** 衍生物  
**salinosporamide A** 目前正在进行治疗多发性骨髓瘤和其他癌症的 I 期人类临床试验。  
Moore 领导的研究组在去年六月破解了这种细菌的基因组，从而为进一步的研究奠定了基础。

Moore 相信，这些发现为进一步将 *Salinispora tropica* 用于药物研发提供了一个新的“路线图”。知道了天然物如何被合成，可以使生物技术和医药科学家能够操控关键分子来加工出新版的 *Salinispora* 衍生药

物。遗传工程可以开发出自然界中不存在的第二代化合物。

研究人员评价说，这种与整合氯有关的 SalL 酶和它的新途径的发现还对了解今后发展具有特殊意义。

海洋是目前开发相对较少的巨大资源库。这个宝藏蕴藏着可能对人类健康有益的大量天然物质。海洋资源的开发利用也是近年来的一个热点。值得一提的是，在 2002 年，第二军医大学药学院海洋药物研究中心发现叶托马尾藻、铁钉菜和蓝斑背肛海兔等三种海洋生物中，具有多种抗癌活性的化合物。

我国科研人员在国际上的这一首次发现，是通过三年艰苦努力的结果。研究人员从我国东南沿海数十个海港、上百个岛屿，采集三百多份标本进行抗肿瘤药物成分的筛选，发现属于十五个科二十三种海洋生物具有不同程度的抗肿瘤活性。其中叶托马尾藻、铁钉菜和蓝斑背肛海兔的抗癌活性比另外二十种海洋生物更为明显。

这三种海洋生物的生物活性和化学成分研究，为我国研究新的抗肿瘤药物，如抗甲状腺肿瘤、喉癌、淋巴瘤等的药物，提供了有价值的先导化合物，同时为进一步开发利用海洋生物提供了科学依据。（生物通雪花）

# 蛋白技术篇之蛋白样品制备

生物通编者按：2007年结束在即，各种年终汇总琳琅满目，生物通网站也将于未来一个多月里大摆生物技术饕餮盛宴，为读者带来前沿技术和最新信息的思维享受和满足——每日密集精选各厂家及经销商过去一年在中国大陆地区着力推广的重点产品文章或者最新上市的新产品新技术文章，将2007年当中生物通网站倍受瞩目的产品和技术一一呈递，打造精彩纷呈的生物技术产品“视觉盛宴”：“头盘”蛋白技术篇、“汤菜”芯片服务篇章、“副菜”细胞技术篇、“主菜”仪器篇、“甜品”PCR技术篇及分子生物学篇等。品赏饕餮盛宴的每道精品之后，即将根据读者投票，公布“精彩生物通2007中国年度产品大奖”评选结果。

## 一、“头盘”蛋白技术篇

### 1. 蛋白技术篇之蛋白样品制备

开篇之际，首先来看看这两句话：“在制备中丢失的蛋白是永远不可能在后面的实验中弥补回来的”，“让我们把蛋白质看作是具有独特而奇妙性质的实体”。

蛋白样品制备是许多实验重要的第一步，蛋白样品由于其结构特性各异，又必须使其完全溶解和尽可能少的化学修饰，所以不可能有一个通用的技术，只能通过大量的实验来积累经验。正如开篇所引用的两句话中包含的深意：在研究蛋白的过程中，既需要严谨的技术流程，规范的操作手段来确保蛋白研究的完整性，也需要将其看成是独特而奇妙的个体，结合以往经验但又不拘泥于经验，才能真正揭开她神秘的面纱。2007年年底让我们一起来回顾一下这一重要技术及值得关注的产品。

#### 为什么要进行样品制备

“为什么要进行样品制备？电泳的目的不就是分离吗？”刚接触双向电泳的小菜鸟有可能就会这么问。这个问题很好回答，这是由于目前双向电泳一般只能分辨到1000-3000个

蛋白质点(spot)，而样品中的蛋白种类可达到10万种以上，因此样品的预分离制备是必须的。另外比如像对临床组织样本进行研究，寻找疾病标记的蛋白质组学研究目的，由于临床样本都是各种细胞或组织混杂，而且状态不一，如肿瘤组织中，发生癌变的往往是上皮类细胞，而这类细胞在肿瘤中总是与血管、基质细胞等混杂。所以常规采用的癌和癌旁组织或肿瘤与正常组织进行差异比较，实际上是多种细胞甚至组织蛋白质组混合物的比较，而蛋白质组研究的通常是单一的细胞类型，因此需要进行有效的样品制备。

但是为什么要进行不同步骤的样品制备呢？这不仅仅是由于蛋白本身不同，所以需要不同方法来配合，而且在制备样品的时候，首先需要明确的是什么实验的最终目的：是分离尽可能多的蛋白还是分离样品中某些感兴趣的蛋白，这些直接决定了你的制备方法，也决定了实验的成功与否。由于想要分离的蛋白必须是完全溶解的，溶解的效果取决于裂解、破碎、沉淀、溶解的过程以及去污剂的选择和各种溶液的组成，因此如果是只对样品中的一部分蛋白感兴趣，可采取预分离的方法，如欲分析的蛋白来自细胞器（细胞核、线粒体和原生质膜），则应先采取超速离心或其他方法将

细胞器分离出来再溶解蛋白；如果是希望分离出尽可能多的蛋白，比如进行全蛋白质组分析，则可以将细胞或组织中的蛋白分成几部分，分级制备。

**ebiotips:**样品制备的原则：

1. 应使所有待分析的蛋白样品全部处于溶解状态（包括多数疏水性蛋白），且制备方法应具有可重现性。
2. 防止样品在聚焦时发生蛋白的聚集和沉淀。
3. 防止在样品制备过程中发生样品的抽提后化学修饰（如酶性或化学性降解等）。
4. 完全去除样品中的核酸和某些干扰蛋白。
5. 尽量去除起干扰作用的高丰度或无关蛋白，从而保证待研究蛋白的可检测性。

以上这五项原则是根据北大人类疾病研究中心讲座内容改编而来，基本上可以说是囊括了样品制备过程中的抽象注意事项，之后还会提到具体的注意事项。

#### 样品制备流程

蛋白样品制备过程简而言之就是三步：破碎、沉淀蛋白和去除杂质。虽然说出来不过寥寥的十个字，但是这几个过程经过这么多年，恐怕还没有那位研究人员可以说自己已经完全掌握，面对任何蛋白制备手到擒来。

#### 破碎——最小限度的减少蛋白水解和其它形式的蛋白降解原则

样品制备的第一步当然是细胞或者其它样品的破碎，这一步看似简单，但是操作中一旦方法不当，就有可能会丢失样品中的蛋白和导致蛋白被修饰。要想毫发无损的通过这一

关，首先就要分析样品的来源，是易碎的细胞还是坚硬的组织？是植物细胞还是真菌？要做到有的放矢，才能事半功倍。

破碎的方法有许多种，包括循环冻融法、渗透法、去污剂法、酶裂解法、超声波法、高压法、液氮研磨法、机械匀浆法和玻璃珠破碎法等（可以归纳为机械法、化学法和物理法），这些方法有不同的应用范围，基本的原则都是要以最小的限度减少蛋白水解和其它形式的蛋白降解变性，这也就是在样品制备破碎这一步的关键所在（详细可参考生物通新技术专栏文章[蛋白质组研究第一步：双向电泳蛋白样品制备-蛋白双向电泳样品制备-生物通](#)）。抑制蛋白酶降解，减少操作过程温度或者其他物理化学条件对蛋白质变性的影响，减少核酸污染对后继电泳等分析的污染，都是破碎过程需要考虑的问题。

目标简言之“三高”，保留活性高，回收产量高，工作效率高。“三高”是苦中作乐的说法，说的轻松，这头一条“保留活性高”便是蛋白样品制备的痛中之痛----样品制备过程导致的蛋白变性和随后的复性工作是很令人头痛的问题。这两年来 Merck, Qiagen, Roche, GE 等公司纷纷开发了一些列蛋白抽提试剂，大大简化了样品制备工作的烦恼，更重要的是保证实验结果的可重复性。

#### Buster一家4口

大肠杆菌是最常用的外源蛋白表达工具。没有活性的包涵体形式表达产物往往用超声波或者压力破碎，包涵体变性和复性的过程之复杂困难效率之低，想起来都令人心碎。如果产物是可溶的活性蛋白，却并不适合用激烈的物理手段。超烦琐冻融法，那是需要精力很旺盛的。若要节省点精力，默克旗下 Novagen

的 BugBuster 蛋白抽提试剂就是为此而设的，优点包括：从 *E. coli* 中快速抽提可溶蛋白，条件温和，不需超声破碎或高压破碎等机械手段，尤其利于活性蛋白提取；非离子型去垢剂，破碎细胞壁细胞膜的同时不会引起可溶蛋白变性；与后继亲和纯化步骤兼容。操作简便快捷直接可用，抽提步骤清晰简明。很符合“三高”的理念要求。以下是一些值得注意的地方：

#### ebiotips::

- **rLysozyme** 有助于彻底消化 *Ecoli* 细胞壁，得到更好的抽提效果——在制备较大的蛋白时尤其推荐使用，但不是必要的。在 pLysS 等有表达 T7 融菌酶的菌株中更加不必使用。

- **Benzonase** 核酸酶可降解核酸，有效降低混合液的粘度，对后继离心和纯化都有帮助，更有助于减少 2D 电泳的斑点背景，强烈推荐共同使用。

- **BugBuster** 可分为原液，无氨基酸型原液，10X 浓缩液，Master Mix（预加 2 种酶的即用型），和分别配合两种不同酶的配套试剂，原液价格是 926/100ml，可以处理 2—2.5 升细菌培养液（每 5ml 可处理 1 克沉淀的湿菌体，相当于 100—125ml 左右的细菌培养液）。由于非常有效地减少样品浪费的消耗，通常已经足够满足实验需要。

- **Primary amine-free** 无氨基酸型原液主要针对的是后继实验准备做蛋白质固定化，交联等对氨基酸敏感的实验，用 PIPPS 代替 Tris。10x 浓缩液本来更划算一些，10ml/800 左右（还没算折扣），可用自己想要的缓冲液稀释成 100ml 即用型原液。BugBuster 可兼容 Tris、PIPPS 或者 PBS 体系，不过不适合用过酸性（ $\text{pH} < 5$ ）或者 NaCl 浓度高于 1M

的溶液稀释，碱性溶液则 OK。是否需要另外加酶或者要加哪种酶看自己需要了。

- **Master Mix**（预加 2 种酶的即用型）

无需稀释即可使用，另外还有 Lysonase，单纯是两种酶的混合液，适合各种需要。

- **BugBuster** 在使用过程中可以加入 EDTA、DTT 或者二硫苏糖醇、0.5 M THP [Tris(hydroxypropyl)phosphine] 等还原剂，不过要注意 EDTA 会影响后继 HisTag 亲和纯化，而还原剂可能会激活蛋白酶。

- **BugBuster** 在使用过程中可以加入各种蛋白酶抑制剂，不过也要注意，如果后继实验中融合蛋白需要用 Thrombin, Factor Xa, 或者 Enterokinase 进行切割，避免使用丝氨酸蛋白酶抑制剂。

- 纯化的包含体可以用变性剂处理，直接上一些可耐受变性剂的亲和纯化柱，还可以用 Novagen 的 Protein Refolding Kit (Cat. No. 70123-3) 中的溶解缓冲液处理，更简便的变性和复性。

**YeastBuster** 酵母表达一般可以选择分泌表达，使得表达产物游离到培养液中，不单减少产物积累，也有利于纯化。不过分泌表达并不总是可行的，特别是对于其他丝状真菌乃至植物细胞，往往需要破壁处理。酵母的细胞壁不同于 *Ecoli*，通常可用蜗牛酶或者  $\beta$ -1,3-glucanase 进行数小时消化破壁得到原生质体。（蜗牛酶记得在上海生化所的试剂公司有售，很便宜，貌似在枫林路上，叫西巴斯，应该是上海生化所的英文缩写的中文读法，寒，很多人问这个，生物通编者按）。

**YeastBuster** 则是采用还原条件下的去垢剂破壁，效率要高得多——只要室温 15-20 分钟（部分酵母要处理长一点时间，比如

*S.pombe*)。同样, 5ml 的 YeastBuster 可处理 1 克湿重的酵母菌体, 加入 THP, 推荐添加 Benzonase 核酸酶降低溶液粘度。15-20 分钟后离心除去不溶细胞碎片, 得到的上清就可以用于后继的纯化实验, 很方便。经过处理的粗提物蛋白产量大, 活性保持高, 符合三高的要求。对其他丝状真菌乃至植物细胞

YeastBuster 同样可以大显身手。要注意处理过程是在还原条件下进行的, 如果不适用还原条件就不能用这个 Kit 了。其优点和注意事项和上面介绍的差不多。反正温和快速高效就是最大的卖点。植物细胞也可以处理!

**CytoBuster** 在研究信号传导中激酶或者磷酸化酶, 或者是研究细胞因子, 或者要做免疫沉淀时, 往往需要得到有活性的蛋白质, 选择合适的裂解液就很重要, 特别是哺乳动物细胞样品来源有限时。**CytoBuster**同样也含一种格外温和的非离子型去垢剂, 操作上就更为简单, 1.对悬浮细胞: 只要离心收细胞, 加入 CytoBuster 5 分钟; 或者 2.对贴壁细胞: 除去贴壁细胞的培养基(如果有干扰后继蛋白质分析的成分, 比如酚红就要用 PBS 或者 HBSS 多洗涤一次) 加入 CytoBuster 5 分钟后用细胞刮子将细胞刮下集中到 CytoBuster 溶液中并收集到离心管里; 最后离心取上清即可进行下步分析。不需要反复冻融, 也不需要超声波, 对绝大多数哺乳动物细胞有极好的溶解效果, 温和非变性的细胞破碎条件对目的蛋白无害, 抽提蛋白活性保持好, 非常方便。这个试剂能与蛋白酶抑制剂、磷酸化酶抑制剂或者激酶抑制剂共同使用。50ml CytoBuster 裂解液价格在 790 左右(公开报价), 用量呢?  $10^6$  个悬浮细胞用量 150ul, 而 6 孔板/35mm 盘用量为 300ul 左右, 100mm 培养皿用 1ml 左右。

**NucBuster** 除了 CytoBuster, 新的 NucBuster 是专门为哺乳动物细胞核蛋白抽提做的——在 EMSA (/gel Shift) 一类研究细胞转录因子的实验中需要用到细胞核蛋白抽提物以研究细胞因子和 DNA 的结合, 过去细胞核蛋白抽提是件挺复杂的事, 需要耗时 7 小时之久。NucBuster 可将整个过程缩短为 30 分钟, 先裂解细胞膜, 去掉上清(细胞质成分), 洗涤干净得到的细胞核沉淀再做下一步裂解。整个过程清晰简洁。2700 多人民币可以做 100 次细胞核蛋白抽提, 每次不到 30 元——要知道买一个核蛋白抽提物可都得要 1000 多(SantaCruz 的就要 1700 大元) 呢! 经常做 EMSA 的实在值得考虑。

## N 合一的蛋白质样品纯化: 一步到位最省心

一年又过去的了, 套用某友的话, 人老得很快, 工作进展得很慢啊。难怪, N 合一的产品最得人心, 手机 MP3MP4 卫星定位导航, 能有的全都给装上, 一步到位嘛。如果你的目的是研究蛋白质特性, 把时间都耗在纯化过程中那太费时间, 看准目标, 蛋白纯化也可以连同初步纯化一步到位。这类试剂盒通常在裂解细胞的同时利用某些共性初步分离蛋白质, 令产品分段收集, 使得在后继的电泳分析中减少背景蛋白的复杂程度, 提高蛋白电泳分辨率。

## ProteoExtract 大宅门

Merck ProteoExtract, 这一系列的产品不仅仅是细胞破碎, 也包含了初步分组纯化的功能。包括全蛋白质组抽提试剂盒、分部蛋白质组抽提试剂盒、亚细胞蛋白质组抽提试剂盒、天然膜蛋白抽提试剂盒、胞质/线粒体分离试剂盒、组织解离试剂盒等等等等。比 Buster 一家 4 口更加适合精确的、规模不大的研究分析用途。

全蛋白质组抽提试剂盒（Complete）能在一支离心管中完成全蛋白质组的抽提，操作简单，无需超高速离心，无需超声或沉淀，也无需在较高温度下孵育样品，即可得到高品质的总蛋白。提高细胞蛋白的溶解度，同时有效去除核酸干扰，提高蛋白分辨率，产物无需浓缩，可直接用于 2D 电泳或者 Western Blot、Elisa 等分析，简单操作可平行处理多个样本。内含 Benzonase 核酸酶可降解核酸，有效降低混合液的粘度，更有助于减少 2D 电泳背景拖尾，令蛋白质点更清晰锐利。

蛋白质种类千变万化，为适应不同需求，ProteoExtract™既有全蛋白质组抽提，也有分部蛋白质组抽提试剂盒（Partial）----按蛋白质溶解度不同，分部抽提蛋白，得到四个不同溶解度组份（易溶，中等可溶，部分难溶和不溶组分，酵母为三个）。整个操作过程无需超高速离心，也无需在较高温度下孵育样本。温和的反应条件确保最大限度地保存蛋白活性，并有利于提高低丰度蛋白分辨率。得到的蛋白可直接用于 2D 电泳等多种电泳分析以及 Western Blot、Elisa 等分析。试剂盒提供了分部蛋白抽提所需的所有试剂，包括抽提及洗脱缓冲液、蛋白酶抑制剂、Benzonase 非特异性核酸酶等。每个试剂盒可用于 20 样本处理。可同时平行处理多个样品。

按照蛋白质溶解度分离蛋白还未算特别，ProteoExtract™ 亚细胞蛋白质组抽提试剂盒专门用于从哺乳动物细胞和组织中快速高效地按亚细胞结构分离蛋白，可从一个哺乳动物样本中分四步按亚细胞膜结构分别分离胞浆蛋白、膜/细胞器蛋白、核蛋白及细胞骨架蛋白。贴壁细胞可直接在培养皿上开始操作，逐步加入相应的试剂分步洗脱目标组分。而组织块则需要先经过细胞分离步骤。悬浮细胞操

作更简单。整个操作过程无需超高速离心，也无需在较高温度下孵育样本。温和的反应条件确保最大限度地保存蛋白活性和后继的功能分析实验。按照目标蛋白的亚细胞定位初步分离，有助于避免其他同类蛋白的干扰，得到更高的蛋白分辨率，这对于许多实验人员来说省去了不少的麻烦。该系列还有一个试剂盒是用来分离胞浆蛋白和线粒体的，特别适合线粒体研究分析。

ProteoExtract 天然膜蛋白抽提试剂盒专门用于从哺乳动物细胞和组织中快速高效地分离天然膜蛋白，仅需 1 至 1.5 小时即可 3-5 倍富集得到有活性的天然膜蛋白，两步操作无需超高速离心，可平行处理多个样本，主要从哺乳动物样本的细胞膜结构中分离膜蛋白，而不仅仅是根据蛋白的疏水性这一特性来完成膜蛋白的分离。极为温和的反应条件可以让膜蛋白及膜相关蛋白在其自然状态下被完整地分离出来，产物可直接用于酶活分析（包括激酶活性分析）；膜蛋白翻译后修饰分析（磷酸化等），（非变性）胶电泳、免疫印迹及分析，膜蛋白的芯片检测等等。试剂盒提供了膜蛋白抽提所需的所有试剂，包括抽提及洗脱缓冲液、蛋白酶抑制剂等。每个试剂盒可用于 20 次贴壁细胞、悬浮细胞及组织等样本（2-5×10<sup>6</sup> 个细胞或 25-50mg 组织每个样本）处理。

#### 特殊的磷酸化蛋白处理

细胞内信号通路失调往往是引起癌变或者肿瘤发生的成因，其特征之一是信号通路成员蛋白质的可逆磷酸化。因此研究细胞信号通路各关键分子的磷酸化水平是分析细胞内信号传导的研究重点之一。要从芸芸众生中专门发掘磷酸化蛋白，你可能需要 ProteoExtract Phosphopeptide Capture Kit。其原理是利用

固定化在磁性颗粒表面的锆离子与磷酸基团的特异性相互作用,可从复杂的蛋白样品中特异性并定量地分离磷酸化多肽,可用于磷酸化位点鉴定的激酶反应后的产物,用于 LC-MS 或 MALDI-MS 鉴定。从胰酶降解样本中仅需 30 分钟即可分离出磷酸化多肽组分,固相分离,无需脱盐,适用于不同量的样本,可谓高效、高特异、高重复性。试剂盒提供磷酸化多肽捕获所需的所有试剂,包括锆交换的磁性颗粒、即用型缓冲液等。每个试剂盒可用于 100 次反应,每次反应可从胶条酶解或分离的蛋白样本中得到多达 2.5nmol 磷酸化多肽。

Phosphoprotein Enrichment Kit 则是另外一种快捷的富集磷酸化蛋白质的工具,富集后的蛋白可用于 SDS-PAGE。试剂盒提供了磷酸化蛋白富集所需的所有试剂,包括裂解液、预装柱、洗脱缓冲液、洗提缓冲液、SDS-PAGE 上样缓冲液等。每个试剂盒可用于处理 25G 哺乳动物组织或 100\*107 个培养细胞,每个试剂盒提供两根预装柱,每根预装柱每次抽提的载量高达 20mg 磷酸化的卵清白蛋白,处理得当的话,柱子可以重复使用 1 至 2 次。可用于从 25G 哺乳动物组织或 100\*107 个培养细胞中富集磷酸化蛋白。从细胞裂解开始仅需 90 分钟。

### ProteoEnrich™ ATP-Binders™ 试剂盒

则是专门用于如蛋白激酶或者其他 ATP 结合蛋白的抽提富集。试剂盒含聚丙稀酰胺树脂,系列结合、漂洗、洗脱缓冲液, DTT, 蛋白酶抑制剂混合物等, 方便快速进行粗裂解物中 ATP 结合蛋白的抽提富集, 并能保持酶活性。每个试剂盒可用于处理 17.5 mg 粗提蛋白。纯化产物可用于 2D 电泳、SDS-PAGE、串联质谱、免疫印迹等实验。

蛋白样品制备过程可能导致磷酸酶释出或者其他因素而使目标蛋白的磷酸化状态改变,因此研究中就要特别注意中要防止蛋白质在样本制备过程中意外磷酸化。防止蛋白酶降解,地球人都知道。防止蛋白质磷酸化该如何呢?可在细胞破碎同时选择磷酸酶抑制剂混合试剂,根据目标蛋白可以选择碱性磷酸酶+丝/苏氨酸蛋白磷酸酶混合抑制剂;碱性磷酸酶+酸性磷酸酶+蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂混合物等等。这类抑制剂可用于组织或细胞蛋白抽提,不受去污剂影响。PhosphoSafe Extraction 试剂其实质也就是含有磷酸酶抑制剂混合物的试剂,在从哺乳动物或昆虫细胞中抽提可溶性蛋白时有助于确保相关蛋白的磷酸化状态。产物可用于激酶分析、蛋白相互作用分析、免疫印迹等其他分析、BCA 蛋白定量分析。



LC-Bio

联川生物 全球首推

Sanger miRBase V10.1 版 microRNA微阵列检测服务

LC Sciences (美国) 作为全球首家推出涵盖 Sanger miRBase V10.1 版 microRNA 信息微阵列芯片检测服务的生物技术公司,一直致力于为全球客户提供高品质的基因组学和蛋白组学产品与服务。公司产品服务包括:核酸/蛋白分析、生物标记发现、新药筛选、医学诊断与生物传感器研发。公司的卓越技术与完善服务已为全球许多国家和地区的科研院所及医疗单位所采用,获得了研究人员的高度评价。[了解更多》](#)

联川生物 (LC-Bio) 作为 LC Sciences 中国地区分公司,现已在国内全面推出涵盖 Sanger miRBase 最新版本 (V10.1) microRNA 信息的微阵列芯片检测服务。联川生物始终以为中国地区客户提供优质的生物技术服务为第一目标,将 LC Sciences 的最新技术与研究成果以最快的速度介绍给国内客户,帮助国内的研究人员在共享世界领先技术的同时,及时敏锐地把握国际科研动向,走在世界科学领域的前端。[了解更多》](#)



EBIOTECH

生物通

# 生物通技术盛宴 2: 蛋白样本制备产品大 PK

## [生物技术盛宴]蛋白技术篇之蛋白样品制备

2007 年刚过，各种年终汇总琳琅满目，生物通网站也将于未来一个多月里大摆生物技术饕餮盛宴，为读者带来前沿技术和最新信息的思维享受和满足--每日密集精选各厂家及经销商过去一年在中国大陆地区着力推广的重点产品文章或者最新上市的新产品新技术文章，将 2007 年当中生物通网站倍受瞩目的产品和技术一一呈递，打造精彩纷呈的生物技术产品“视觉盛宴”

### Qiagen 蛋白样品制备大 PK

雄心勃勃的 Qiagen 显然不满足于核酸样品制备之霸主地位，在过去的一年中不断发力进军蛋白样本制备市场----蛋白样本的高度复杂多样，使得研究人员对蛋白样本制备产品的稳定性和可靠性要求更高---Qiagen 一向“严谨稳定可靠”的卓著声誉无疑是很有利的。

Qproteome 系列蛋白分类抽提试剂种类非常

全，均遵循用简单方便（无需特殊仪器）的方法有效分离目标蛋白亚群，有效降低蛋白样品的复杂性，而且结果可靠重复性好，最重要的是能得到天然构象的活性蛋白，可用于酶活分析和其它蛋白活性检测。由于 Qiagen 蛋白分类抽提的试剂和前面介绍的 Merck 旗下 Novagen 和 Calbiochem 各有所长之处，生物通在这里用表格 PK 一下，数据说话。

试剂盒	样本类型	结果	样本量和性价比	生物通 PK 点评
<a href="#"><u>Qproteome Bacterial Protein Prep Kit</u></a>	细菌总蛋白	可溶性细菌蛋白，可用于 PAGE 电泳分析	¥2350/180ml (包含 6000Units 的 Banzonase 和 180mg 的 Lysozyme)，每 1ml 裂解液可处理 25ml 培养液。	BugBuster Master Mix ( 已 包 含 Banzonase 和 Lysozyme ) 2522/100ml。每 1ml 裂解液可处理 20-25ml 培养液。比比试剂分量，不必多说 ProteoExtract Complete Bacterial Proteome Extract Kit 目标不同，是利用还原变性条件抽提细菌全蛋白(包括包含体等不溶蛋白)，作为 2D 电泳样品制备。非同类项不做对比。ProteoExtract 另外有 Yeast 产品，做酵母首选
<a href="#"><u>Qproteome Mammalian Protein Prep Kit</u></a>	哺乳动物细胞总蛋白	天然活性哺乳动物细胞总蛋白	¥ 2350/100ml ( 包 含 提 供 2000Units 的 Banzonase 和 1200ul 100X 的蛋白酶抑制剂 )，每 1ml 裂解液可处理 5-10x10 <sup>6</sup>	CytoBuster ¥858/50ml(不含Banzonase 和蛋白酶抑制剂)150ul裂解液可处理 10 <sup>6</sup> 个细胞。考虑一下蛋白酶抑制剂成本和 Banzonase 成本，差不多。

	白	个细胞。	ProteoExtract™ Complete Mammalian Proteome Extraction Kit 目的是利用还原条件抽提动物细胞全蛋白作为 2D 电泳样品制备。非同类项不做对比。
<u><a href="#">Qproteome Nuclear Protein Kit</a></u>	真核细胞蛋白	蛋白总量 1.5-2.5mg, 分成胞质蛋白、‘不溶的’核蛋白(如组蛋白)和核酸结合蛋白	¥3690/12test, 每次处理 $10^7$ 个细胞左右, 试剂还包含 2000Unit Benzonase核酸酶、300ul 100X 蛋白酶抑制剂。第一次细胞裂解后可分别回收胞浆蛋白和细胞核, 二次裂解细胞核回收可溶的核蛋白, 利用Benzonase核酸酶消化核酸二次溶解沉淀得到‘不溶的’核蛋白(如组蛋白等核酸结合蛋白)
<u><a href="#">Qproteome Nuclear Subfractionation Kit</a></u>	真核细胞蛋白	蛋白总量 1.5-2.5mg, 分成胞质蛋白、‘不溶的’核蛋白(如组蛋白)和核酸结合蛋白 , 核酸结合蛋白可进一步细分三个组分(50-100ug)	¥2930/6test(试剂盒成分如上, 增加 3 个 磷酸纤维素 phosphocellulose 柱, 可将细胞核裂解上清中的核酸结合蛋白再分段为 3 个组分) 充分降低蛋白质样本的复杂程度, 提高低丰度蛋白在 2D 电泳中的分辨率。
<u><a href="#">Qproteome Soluble Protein Separation Kit</a></u>	全部蛋白	蛋白总量 0.5-4mg, 按照蛋白溶解性不同, 将总蛋白分成 6 个部分。500ul 蛋白样本 (蛋白总量 0.5-4mg)	ProteoExtract Partial Proteome Extraction Kit ¥5702/20tests, 这个试剂盒与 Q 的相反, 将细胞裂解上清的可溶蛋白作为一个组分, 再通过用不同试剂分步溶解细胞沉淀, 使沉淀中不同溶解度的蛋白分步溶出。Q 的 Kit 针对上清中可溶蛋白的分段。处理目标有不同, 看官各取所需。除了哺乳动物细胞用途的, ProteoExtract 系列还有酵母和细菌专用试剂盒的选择。

<u><a href="#">Qproteome Cell Compartment Kit</a></u>	细胞器 / 亚细胞定位特异性蛋白	蛋白总量 0.5-1mg, 按照蛋白亚细胞定位的不同, 分为细胞质、细胞膜、细胞核与细胞骨架蛋白 4 个组分。	¥2430/10test, 每次处理 $5 \times 10^6$ 个细胞/20mg组织。逐级溶解的方式分步将裂解细胞中的胞浆、细胞膜、核蛋白和细胞骨架蛋白溶解出来。提供蛋白酶抑制剂和 Benzonase 核酸酶和组织研磨后过滤的柱子	ProteoExtract Subcellular 和这个设计比较相似, ¥ 5702/20tests, 每次处理 $1-2 \times 10^8$ 个细胞/500mg组织。由于每次可处理的样本量大至少 1 个数量级以上, 因而提供试剂的量也比较大。没有过滤柱子但有提供洗细胞缓冲液和帮助研磨的玻璃珠。可根据个人每次处理样本量的大小来选择。
<u><a href="#">Qproteome FFPE Tissue Kit</a></u>	福尔马林固定石蜡包埋样本	全蛋白	¥3470/20tests, 利用试剂解开福尔马林固定过程中产生的化学交联, 得到和冰冻组织一样的全长蛋白。	珍贵的临床样本特别是肿瘤切片多经过福尔马林固定石蜡包埋, 这种样本蛋白抽提往往非常困难。这个试剂盒相当方便, FFPE 样本的必然之选。
<u><a href="#">Qproteome Plasma Membrane Protein Kit</a></u>	细胞天然膜蛋白	细胞内各类膜蛋白	¥ 3,690/6tests, 每次可处理 $5 \times 10^6$ 的 6 次方个细胞。彻底裂解细胞后, 在可溶的上清中, 利用特定膜蛋白结合配体磁珠特异吸附细胞内各类膜蛋白	ProteoExtract Native Membrane Protein Extraction Kit ¥ 5300/20tests, 这个原理是破碎细胞去除可溶的胞浆蛋白后, 再利用溶剂将沉淀中的膜蛋白溶解出来。2 个原理是不同的。Q 的亲和纯化专一性高, 价格也贵好几倍。
<u><a href="#">Qproteome Mitochondria Isolation Kit</a></u>		线粒体蛋白	¥2930/12tests, 每次可处理 10 的 7 次方个细胞。破碎细胞后通过离心沉淀和特定试剂悬浮, 分离出纯的线粒体, 并进一步纯化。	线粒体蛋白研究的难题之一是如何和胞浆蛋白区分。通过先富集线粒体并除掉胞浆蛋白, 就很容易做到

生物通编辑整理, 版权所有谢绝转摘

GE Healthcare

GE Healthcare 买满USS\$300  
送傲仕保温杯一个



WORLDWIDE PARTNER



imagination at work

800热线:  
**800-810-9118**

通用电气(中国)医疗集团有权在任何时候, 在不另行通知的情况下, 不负有任何义务地改变上述规格和性能, 并有权终止该产品的供应。如需要最新信息请与通用电气(中国)医疗集团在国内的销售代表联系。



# 生物通技术盛宴 3: 磷酸化蛋白和糖基化蛋白的样本制备

2007 年刚过，各种年终汇总琳琅满目，生物通网站也将于未来一个多月里大摆生物技术饕餮盛宴，为读者带来前沿技术和最新信息的思维享受和满足--每日密集精选各厂家及经销商过去一年在中国大陆地区着力推广的重点产品文章或者最新上市的新产品新技术文章，将 2007 年当中生物通网站倍受瞩目的产品和技术一一呈递，打造精彩纷呈的生物技术产品“视觉盛宴”

## ►生物通技术盛宴 2：蛋白样本制备产品大PK

### ►蛋白技术篇之蛋白样品制备

特定蛋白质的富集----磷酸化蛋白  
和激酶

细胞内信号通路失调往往是引起癌变或者肿瘤发生的成因，其特征之一是信号通路成员蛋白质的可逆磷酸化。因此研究细胞信号通路各关键分子的磷酸化水平是分析细胞内信号传导的研究重点之一。要从芸芸众生中专门发掘磷酸化蛋白，你可能需要

**ProteoExtract Phosphopeptide Capture Kit。**  
其原理是利用固定化在磁珠表面的锆离子与磷酸基团的特异性相互作用，可从复杂的蛋白样品中特异性并定量地分离磷酸化多肽，可用于磷酸化位点鉴定的激酶反应后的产物，用于 LC-MS 或 MALDI-MS 鉴定。从胰酶降解样本中仅需 30 分钟即可分离出磷酸化多肽组分，固相分离，无需脱盐，适用于不同量的样本，可谓高效、高特异、高重复性。试剂盒提供磷酸化多肽捕获所需的所有试剂，包括锆交换的磁性颗粒、即用型缓冲液等。由于关键纯化介质是磁珠，因此在使用上相当灵活，可根据蛋白量任意调整每次纯化使用磁珠的量，特别适合样本量小的实验，包括从电泳胶条中纯化的蛋白质中分离磷酸化蛋白。¥4396，每个试剂盒最多可用于 100 次反应（每次反应可从胶条酶解或分离的蛋白样本中得到多达 2.5n

mol 磷酸化多肽）。

Qiagen 同类产品名为 **PhosphoProtein Purification Kit**，原理估计都差不多，利用亲和层析技术来分离细胞裂解液中的磷酸化与非磷酸化蛋白，可得到保持有生物活性的蛋白。Q 的设计为亲和层析柱，操作上比磁珠方便，但是不够灵活----每个柱子载量很大，可达 2.5mg（约  $10^7$  个培养细胞），¥3290/6tests，可纯化次数只有 6 次，因而每次成本就很高了，适合样本量巨大的实验。值得称道的是试剂盒还提供离心式的超滤纯化柱，方便进一步脱盐浓缩等纯化工作，非常贴心。

### ProteoExtract Phosphoprotein

**Enrichment Kit** 则是另外一种快捷的富集磷酸化蛋白质的工具，富集后的蛋白可用于 **SDS-PAGE**。试剂盒提供了磷酸化蛋白富集所需的所有试剂，包括裂解液、预装柱、洗脱缓冲液、洗提缓冲液、**SDS-PAGE** 上样缓冲液等。每个试剂盒可用于处理 25G 哺乳动物组织或  $100 \times 10^7$  个培养细胞，每个试剂盒提供两根预装柱，每根预装柱每次抽提的载量高达 20mg 磷酸化的卵清白蛋白，处理得当的话，柱子可以重复使用 1 至 2 次。可用于从 25G 哺乳动物组织或  $100 \times 10^7$  个培养细胞中富集磷酸化蛋白。从细胞裂解开始仅需 90 分钟。

### ProteoExtract ProteoEnrich™

TP-Binders™ 试剂盒则是专门用于如蛋白激酶或者其他 ATP 结合蛋白的抽提富集。试剂盒含聚丙稀酰胺树脂，系列结合、漂洗、洗脱缓冲液，DTT，蛋白酶抑制剂混合物等，方便快速进行粗裂解物中 ATP 结合蛋白的抽提富集，并能保持酶活性。每个试剂盒可用于处理 17.5 mg 粗提蛋白。纯化产物可用于 2D 电泳、SDS-PAGE、串联质谱、免疫印迹等实验。

蛋白样品制备过程可能导致磷酸酶释出或者其他因素而使目标蛋白的磷酸化状态改变，因此研究中就要特别注意中要防止蛋白质在样本制备过程中意外磷酸化。防止蛋白酶降解，地球人都知道。防止蛋白质磷酸化该如何呢？可在细胞破碎同时选择磷酸酶抑制剂混合试剂，根据目标蛋白可以选择碱性磷酸酶+丝/苏氨酸蛋白磷酸酶混合抑制剂；碱性磷酸酶+酸性磷酸酶+蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂混合物等等。可选择的产品包括罗氏公司的磷酸酶抑制剂混合片，Sigma, Calbiochem 也有类似的产品。这类抑制剂可用于组织或细胞蛋白抽提，不受去污剂影响。PhosphoSafe Extraction 试剂其实质也就是含有磷酸酶抑制剂混合物的试剂，在从哺乳动物或昆虫细胞中抽提可溶性蛋白时有助于确保相关蛋白的磷酸化状态。产物可用于激酶分析、蛋白相互作用分析、免疫印迹等其他分析、BCA 蛋白定量分析。

### 独一无二的糖基化蛋白分段富集

蛋白质组世界的丰富多彩并不仅仅因为蛋白质本身的多样性和复杂性，另外一个原因是多姿多彩的蛋白质翻译后加工。除了磷酸化蛋白，糖基化蛋白也是近来研究大热的目标。

蛋白的糖基化极大的增加了蛋白的多样性和复杂性，更赋予蛋白质更多特殊活性和功能----有数据表明近半数的蛋白质都会经过翻译后糖基化加工----糖基化是蛋白质功能研究中非常重要的一环。对于专注糖蛋白研究的研究人员来说，Qiagen 的糖蛋白纯化试剂盒绝对是佳音。利用凝集素可以特异的和糖基进行可逆结合的特性，来对不同的糖蛋白进行分类抽提。试剂盒中提供预装好的凝集素树脂和缓冲液。使用简单。

**Qproteome Total Glycoprotein Kit:** 纯化总糖基化蛋白，细胞裂解液经过试剂盒中提供一种凝集素树脂柱，柱上同时固定有 Con A 和 WGA 两种凝集素，可以同时吸附 O-linked 和 N-linked 2 大类糖基化蛋白，即可洗脱得到富集的糖基化蛋白。价格都是 ¥3690/6tests。每次处理样本量大约 10 的 7 次方个细胞。

**Qproteome Mannose Glycoprotein Kit:** 纯化富含甘露糖的糖基化蛋白，试剂盒中提供三种凝集素树脂柱，分别固定有 ConA, GNA, LCH。按照蛋白所含糖基的凝集素特异性可进一步分为 3 个部分。

**Qproteome Sialic Glycoprotein Kit:** 纯化富含唾液酸的糖基化蛋白，试剂盒中提供三种凝集素树脂柱，分别固定有 WGA, SNA, MAL。按照蛋白所含糖基的凝集素特异性进一步分为 3 个部分。

**Qproteome O-Glycan Glycoprotein Kit:** 纯化 T-抗原型糖基化蛋白，试剂盒中提供两种凝集素树脂柱，分别固定有 AIL 和 PNA。按照蛋白所含糖基的凝集素特异性进一步分为 2 个部分。

在分离和纯化蛋白质和多肽?



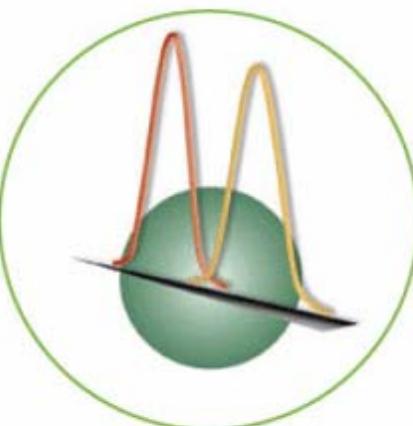
脱盐和交换缓冲液  
所需时间**不超过5分钟**

买满USS300送傲仕保温杯一个

- 脱盐
- 去除小分子标记物
- 去除添加剂
- 去除小分子抑制剂
- 交换缓冲液



**省时** 让实验室生活更精彩



为了省时, 请赶快选择订购GE Healthcare 的凝胶过滤产品来脱盐或交换缓冲液吧! (具体产品信息见内页)



# 通用电气（中国）医疗集团

网址: [www.gelifesciences.com](http://www.gelifesciences.com)  
邮箱: [lifesciences@ge.com](mailto:lifesciences@ge.com)



imagination at work

800热线:  
**800-810-9118**

通用电气（中国）医疗集团有权在任何时候, 在不另行通知的情况下, 不负有任何义务地改变上述规格和性能, 并有权终止该产品的供应。如需要最新信息请与通用电气（中国）医疗集团在国内的销售代表联系。