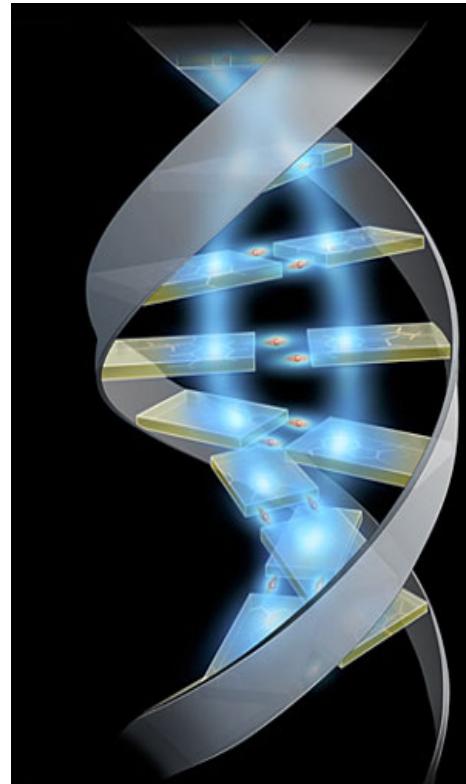


一、研究前沿：

《自然》两篇文章介绍生物新方法
《自然》子刊：人为什么会发烧
董孟秋·科学：蛋白质组学新技术
《细胞》《科学》两篇文章发表酶学研究新突破
《自然》：生死一线的关键操纵者
PNAS：蛋白质、干细胞和可能的治痴呆药物
一些最老的生命形式被发现
多中心研究发现新肺癌抑制基因
《科学》：蛋白折叠研究新突破
《科学》：免疫系统历史比我们想象的悠久
10种灵长类动物基因组研究成果公布
新一批敲除小鼠序列数据存入基因银行
一种新的肝癌检测方法
首次发现活体细胞转录新机制



二、关注中国：

中山大学最新《PNAS》文章
上海生科院教授《细胞》子刊解析神经干细胞研究
翁启惠研究组研发全球首例乳腺癌疫苗
百人计划人才《细胞》子刊发现细胞因子新功能

三、技术前沿

PCR基因分型技术指南
十步优化膜片钳技术
如何选择紫外分光光度计？



《自然》两篇文章介绍生物新方法

生物通报道：生物学研究方法日新月异，在8月2日的《Nature》杂志上，来自麻省理工学院和哈佛大学的两个研究小组介绍了两种新颖的技术，为生物学研究提出了新的思路。

原文检索：Nature 448, 553-560 (2 August 2007) | doi:10.1038/nature06008; Received 10 May 2007; Accepted 13 June 2007; Published online 1 July 2007 Genome-wide maps of chromatin state in pluripotent and lineage-committed cells [Abstract] Nature 448, 604-608 (2 August 2007) | doi:10.1038/nature06001; Received 10 April 2007; Accepted 7 June 2007; Published online 18 July 2007 Common effector processing mediates cell-specific responses to stimuli [Abstract]

在第一篇文章中，来自麻省理工学院和哈佛大学的 Broad 研究院 (Broad Institute of MIT and Harvard) , Whitehead 生物医药研究院，哈佛医学院病理学系，儿童医院神经学系的研究人员利用单分子测序技术 (single-molecule-based sequencing technology) 对哺乳动物基因组组蛋白修饰方面进行了高通量分析，构建小鼠胚胎干细胞和其他两种在发育上更先进的细胞类型的染色质状态图，从而显示了重要染色质修饰在整个基因组范围内的分布。这一研究为也将综合染色质甄别方法应用于对各种不同的哺乳动物细胞群、包括癌症等疾病中所出现的异常细胞发育情况进行定性研究提供了一个框架。

单分子测序是一项沿用了多年的技术，每次分析一个 DNA 分子，因此就可以精确的检测出基因中的少量变化。 Sequenom 的首席卫生官员 Andreas Braun 博士说：“这些差异是否具有意义那是另一个问题，但我们首先希望存在这种差异。”单分子测序被描述为遗传学分析的圣杯。 ABI 公司的 Phillip Nore 说：“通过增加数量级单分子测序技术就可以减少测序的成本。”Nore 先生指出，许多遗传学实验，例如用目前的设备对 100 个癌症病人进行全基因组测序花费太大。将费用减少 3~4

个数量级，减少到 100~1,000 美元将会使测序真正进入临床诊断。单分子分析需要更先进的纳米技术，这不仅是仪器的根本变革，而且是思想的根本变革。 Nore 先生说：“目前我们所知和所做的都是基于使用大量的分子。”虽然 PCR 被用来克服样品数量的局限性，但是如果能做到单分子分析的话，那就会成为一个“回到未来”的主题——扩增不仅仅是多余的，而且还可能影响了科学进步。

这篇文章中单分子测序技术的应用就很好的说明了这一新测序技术的前景，目前也有一些公司已经意识到了这一技术的重要性，比如 Helicos Biosciences 和 Agencourt Bioscience: 8 月 Agencourt 公司公布了利用这一技术对 *Escherichia coli* 的重新测序结果；12 月 19 日 Helicos 公司也宣布已成功获得 M13 基因组测序结果。

另一篇文章中，来自麻省理工细胞中心，化学工程系，以及哈佛医学院细胞生物学系的研究人员利用一种新颖的系统模拟方法 (systems-modelling approach) 来研究不同细胞类型以不同方式对同样的原始刺激进行反应这一问题，结果发现细胞特性的主要决定因子是上游信号事件的类型、强度和组合。这些细胞类型特异性信号被相同的促动因子所

整合,产生细胞类型特异性结果。揭开细胞特性之谜对于了解胚胎发育、生物恒定性及定向疗法的副作用等都很重要。

许多信号途径的基本构成部分在一个生物体中对大多数细胞来说都是相同的,但是刺激或抑制细胞内网络常常引起截然不同的表

型,为了了解这一现象的机制,研究人员利用一种新颖的系统模拟方法进行了研究,发现细胞特性的主要决定因子是上游信号事件的类型、强度和组合。这一发现有利于理解对于靶定药物治疗过程中特异性细胞的不用反应。

(生物通: 万纹)



Geliance系列化学发光/荧光成像仪



联系我们：



珀金埃尔默仪器(上海)有限公司

中文网址：www.perkinelmer.com.cn

英文网址：www.perkinelmer.com

全国免费电话：800-8205-046

上海办事处：

上海市张江高科技园区李冰路67弄4号楼
邮编：201203
电话：021-50791330
传真：021-50791316

广州代表处：

广州市建设六马路33号宜安广场2813室
邮编：510060
电话：020-83633177
传真：020-83633579

成都代表处：

成都市新华大道文武路42号新时代广场13层1座
邮编：610017
电话：028-86782662
传真：028-86782522

北京办事处：

北京市朝阳区建国路93号万达广场西区8号楼6层608室
邮编：100022
电话：010-58208166
传真：010-58208155

武汉代表处：

武汉市武昌中南路7号中商广场B座2511室
邮编：430071
电话：027-87322732
传真：027-87322685

沈阳代表处：

沈阳市沈河区北站路51号新港澳国际大厦13层G座
邮编：110013
电话：024-22566158
传真：024-22566153



《自然》子刊：人为什么会发烧

生物通报道：Beth Israel Deaconess 医学中心 (BIDMC) 的研究人员的一项新发现回答了发烧这种适应性功能如何在细菌感染和其他类型疾病过程中帮助保护机体。他们发现“发烧”产生的根源是一种激素对大脑中特定位点上的作用。这项新研究的结果发表在《自然·神经学》杂志的网络版上。

这项研究负责人 Clifford Saper 教授解释说，这项研究揭示出大脑如何在感染期间做出“发烧”应答。他的实验室确定出了一种叫做 PGE2 (前列腺素 E2) 的激素在大脑中的靶标 EP3 受体上的关键作用位点，两者的结合会导致发烧。

在发炎过程中(如身体抵抗感染或疾病的炎症)，身体能制造叫做细胞激素 (cytokines) 的激素，这种激素又顺次作用于大脑中的血管以促进 PGE2 的产生。

PGE2 然后进入到大脑中的丘脑下部导致发烧、丧失食欲、疲劳以及疾病和疼痛的感觉。这些疾病的常见症状是一种适应性应答，能够使身体更好地抵抗感染。

当体温上升几度时，白细胞能够更有效地对抗感染。而且，个体往往会有疼痛感，并觉得昏昏欲睡。这些反应让身体能够保存能量来更好地对付感染。这也是为什么不同类型的疾病都能导或多或少的相同的疾病症状。

由于 PGE2 导致发烧的作用神经元还不清楚，研究人员就创造出了一种大脑的一部分中、在一段时间内敲除了 EP3 受体基因的小鼠。

这项研究首次实现了在大脑中的一个单独的位点上敲除这种受体。因此使研究人员能够很肯定地说，大脑中的这个特殊位点就是前列腺素起作用并导致发烧的部位。

研究人员认为，疾病行为的其他方面如因对疼痛敏感性增加导致的疼痛感也来自于大脑中的特定部位。该研究组计划利用相同的方法来分享大脑对炎症的应答，并希望找到人在生病时表现出的特定症状的原因。

前列腺素是存在于动物和人体中的一类不饱和脂肪酸组成的具有多种生理作用的活性物质。最早发现存在于人的精液中，当时以为这一物质是由前列腺释放的，因而定名为前列腺素。

现已证明精液中的前列腺素主要来自精囊，此外全身许多组织细胞都能产生前列腺素。前列腺素的化学本质是由一个五元环和两条侧链构成的 20 碳不饱和脂肪酸。按其结构，前列腺素分为 A、B、C、D、E、F、G、H、I 等类型。不同类型的前列腺素具有不同的功能，如前列腺素 E 能舒张支气管平滑肌，降低通气阻力；而前列腺素 F 的作用则相反。前列腺素的半衰期极短 (1~2 分钟)，除前列腺素 I2 外，其他的前列腺素经肺和肝迅速降解，故前列腺素不像典型的激素那样，通过循环影响远距离靶组织的活动，而是在局部产生和释放，对产生前列腺素的细胞本身或对邻近细胞的生理活动发挥调节作用。前列腺素对内分泌、生殖、消化、血液呼吸、心血管、泌尿和神经系统均有作用。(生物通雪花)



董孟秋·科学：蛋白质组学新技术

生物通报道：来自美国斯克利普斯研究所（Scripps Research Institute）Salk生物研究院，加州大学圣地亚哥分校的研究人员利用一种蛋白定量分析新方法对长寿线虫进行了研究，发现了能延长和缩短寿命的蛋白。这对于进一步丰富蛋白定量研究方面来说意义重大。这一研究成果公布在《Science》杂志上。

文章的第一作者是来自斯克利普斯研究所的Andrew Dillin实验室的董孟秋（Meng-Qiu Dong，音译）。

原文检索：Science 3 August 2007:Vol. 317. no. 5838, pp. 660 - 663 DOI: 10.1126/science.1139952 Quantitative Mass Spectrometry Identifies Insulin Signaling Targets in *C. elegans*

仅仅知道蛋白质的身份并不足以对蛋白质给出最终定论，因为蛋白质的浓度对于实现其在细胞中的功能来说极其重要，一种特殊蛋白质在浓度上的变化就能预示细胞的突变过程。因此，科学家能够对蛋白质的相对和绝对浓度进行测量，是很重要的事情。过去，科学家通常先进行二维(2D)凝胶电泳，切断条带，再用质谱方法测量条带中的蛋白质。可是，这种方法不是很理想：既不是非常敏感，也不是非常精确。

蛋白组学中的方法一直在不断提高。基于高度敏感性和精确性的串联质谱方法，不需要凝胶，就可以获得相对和绝对定量的蛋白质结果。同位素标记相对和绝对定量

(iTRAQ) 和同位素亲和标签 (iCAT) 是这些新进展中的两大主力，这些技术具有较好的定量效果、较高的重复性，并可对多达四种不同样本同时进行定量分析。但是仍然存在不尽如人意的地方，需要不断改进。

在这篇文章中，研究人员利用一种蛋白定量分析新方法对长寿线虫进行了研究，发现了能延长和缩短寿命的蛋白。这种方法即质谱仪分析方法，他们利用质谱仪比较了带有daf-2突变的线虫和不带突变的线虫的蛋白质的量。识别出47个蛋白质在突变线虫中更丰富，另有39个蛋白质在突变线虫中的量不丰富。实验显示，有些蛋白质增加寿命、有些降低寿命。Stuart K. Kim在一篇相关的研究评述中写道：研究人员将继续改进这个方法，因为这个技术现在只能用来研究线虫基因组中不到10%的蛋白质。

以前科学家也曾了解带有daf-2基因突变的美丽线虫比没有突变的线虫的寿命长一倍。daf-2降低一个名为“类胰岛素信号发生”过程的活性，从而延长了寿命。（生物通：万纹）

附：蛋白质定量分析技术

实验一 双缩脲法测定蛋白质浓度

【原理】 双缩脲($\text{NH}_2\text{CONHCONH}_2$)在碱性溶液中与硫酸铜反应生成紫红色化合物，称为双缩脲反应，蛋白质分子中含有许多肽键(-CONH-)在碱性溶液中也能与 Cu^{2+} 反应产生紫红色化合物。在一定范围内，其颜色的深浅与蛋白质浓度成正比。因此，可以利用比色法测定蛋白质浓度。

双缩脲法是测定蛋白质浓度的常用方

法之一。操作简便、迅速、受蛋白质种类性
质的影响较小，但灵敏度较差，而且特异性
不高。除-CONH-有此反应外，-CONH2、
-CH2NH2、-CS-NH2等基团也有此反应。

【操作】 取中试管7支，按下表操作。

各管混匀、放置37℃水浴中保温20分
钟。用540nm比色，以空白管调零点，读
取各管光密度值。

【计算】

(一)在座标纸上以光密度为纵座标，以
蛋白质浓度为横座标绘制标准曲线。

(二)从标准曲线中查出待测血清样本
的蛋白质浓度(g / L)，并求出人血清样本的
蛋白质

浓度。

(三)再从标准管中选择一管与测定管
光密度相接近者，求出人血清样本的蛋白
质浓度(g / L)。

【器材】 中试管7支，1毫升刻度吸管3支，
10毫升刻度吸管1支，水浴箱，721型分光
光度计、坐标纸。

【试剂】

(一)6N NaOH: 称取240g氢氧化钠溶
于1000ml水中。

(二)双缩脲试剂: 称取CuSO4 · 5H2O
3.0克，酒石酸钾9.0 克和碘化钾5.0克，分
别溶解后混匀，加6N NaOH 100ml，最后加
水至1000ml，贮于棕色瓶中，避光，可长
期保存。如有暗红色沉淀出现，即不能使用。

(三)0.9%NaCl。

(四)蛋白质标准液(10mg / ml)，称取
干燥的牛血清蛋白100.0mg，以少量生理盐
水溶解后倒入10ml容量瓶中，淋洗称量瓶数
次，一并倒入容量瓶中，最后加生理盐水至
刻度线，或用凯氏定氮法测定血清蛋白质含
量，然后稀释成10mg / ml作为蛋白质标准

液。

(五)待测血清样本: 将人血清或动物血
清用生理盐水稀释10倍后再测定。

**实验二 Folin-酚试剂法(Lowry法)测
定蛋白质浓度**

【原理】 蛋白质在碱性溶液中其肽键与
Cu2+螯合，形成蛋白质一铜复合物，此复
合物使酚试剂的磷钼酸还原，产生蓝色化合
物，在一定条件下，利用蓝色深浅与蛋白
质浓度的线性关系作标准曲线并测定样品中
蛋白质的浓度。

【操作】 取试管7支、编号、按下表操作：
生理盐水
立即混匀，在20℃~25℃水浴保温30
分钟。用660nm比色，测定光密度值。

操作注意事项：

1. 按顺序添加试剂
2. 试剂乙在酸性条件下稳定，碱性
条件下(试剂甲)易被破坏，因此加试剂乙
后要立即混匀，加一管混匀一管，使试剂乙
(磷钼酸)在破坏前即被还原。

【计算】

(一)绘制标准曲线。以浓度为横坐标，
光密度值为纵坐标绘制标准曲线。

(二)以测定管光密度值，查找标准曲
线，求出待测血清中蛋白质浓度(g / L)。

(三)再从标准管中选择-管与测定管光
密度相接近者，求出待测血清中蛋白质浓度
(g / L)。

【器材】

(一)721型分光光度计
(--)恒温水浴箱
(三)中试管7支
(四)刻度吸管：1.0ml二支；0.5ml一支；
5.0ml一支。

【试剂】

(一)试剂甲

- (1)4%碳酸钠(Na₂CO₃)溶液
- (2)0.2N氢氧化钠溶液
- (3)1%硫酸铜溶液(CuSO₄ · 5H₂O)
- (4)2%酒石酸钾钠溶液(或酒石酸钾或钠)

在使用前(1)与(2)、(3)与(4)等体积混合,再将两混合液按50: 1比例混合,即为试剂甲。该试剂只能用一天,过期失效。

(一)试剂乙:

(1)市售酚试剂在使用前用NaOH滴定,以酚酞为指示剂,根据试剂酸度将其稀释,使最后酸度为1N。

(2)或取Na₂WO₄·2H₂O 100g和Na₂MoO₄ 25g。溶于蒸馏水700ml中,再加85% H₃PO₄ 50ml和HCl(浓)100ml,将上物混合后,置1000ml圆底烧瓶中温和地回流十小时,再加硫酸锂(Li₂SO₄·H₂O)150g,水50ml及溴水数滴。继续沸腾15分钟后以除去剩余的溴,冷却后稀释至1000ml然后过滤,溶液应呈黄色或金黄色(如带绿色者不能用),置于棕色瓶中保存,使用时用标准NaOH滴定,以酚酞为指示剂,而后稀释约一倍,使最后酸度为1N。

(三)标准蛋白质溶液

用结晶牛血清白蛋白,根据其纯度用蒸馏水配制成0.25mg / ml的蛋白质溶液。(纯度可经凯氏定氮法测定蛋白质含量而确定)。

(四)待测样品:准确取血清0.1ml,置于50ml容量瓶中,再加0.9%NaCl溶液至刻度,充分混匀,也可以用尿液为样品。

实验三 紫

外分光光度法测定蛋白质浓度

【原理】

蛋白质分子中含有共轭双键的酪氨酸、色氨酸等芳香族氨基酸。它们具有吸收紫外光的性质,其吸收高峰在280nm波长处,且在此波长内吸收峰的光密度值与其浓度成正比关系,故可作为蛋白质定量测定的依据,但由于各种蛋白质的酪氨酸和色氨酸的含量不同,故要准确定量,必需要有待测蛋白质的纯品作为标准来比较,或且已经知道其消光系数作为参考。另外,不少杂质在280nm波长下也有一定吸收能力,可能发生干扰。其中尤以核酸(嘌呤和嘧啶碱)的影响更为严重。然而核酸的最大吸收峰是在260nm。因此溶液中同时存在核酸时,必须同时测定OD260nm,与OD280nm。,然后根据两种波长的吸收度的比值,通过经验公式校正,以消除核酸的影响而推算出蛋白质的真实含量。

本法操作简便迅速,且不消耗样品(可以回收),多用于纯化之蛋白质的微量测定。主要缺点:当待测的蛋白质与标准蛋白质中的酪氨酸和色氨酸含量差异较大时,则产生一定误差,混有核酸时必须分别测定280nm和260nm两处的OD值,再按公式推算蛋白质含量。

【操作】

取试管7支,按下表操作:

0.4

3.6

各管混匀,盛于石英杯中,用紫外分光光度计,以空白管调节零点,分别于280nm、260nm波长下测定各管光密度,

【计算】

(一)直接根据标准液与待测液的光密度值(OD_{280nm}),或从标准曲线,求得样本蛋白质含量。

以标准管各管光密度值为纵坐标,以蛋

白质浓度为横坐标绘制标准曲线,然后根据测定管光密度值,直接查标准曲线求得样本中蛋白质的含量。

1. 选一种与待测样本蛋白质氨基酸组成相近似的蛋白质纯品,用生理盐水稀释至浓度为 $1\text{mg} / \text{ml}$, 作为稀释标准蛋白质溶液。

2. 用生理盐水稀释待测样本蛋白质至浓度约为 $1\text{mg} / \text{ml}$, 即为稀释样本蛋白质溶液。

(二)利用经验公式直接计算样本蛋白质含量,

准确吸取血清样本 0.1ml , 置于 50ml 容量瓶中, 用生理盐水稀释至刻度, 即 500 倍稀释, 在 280nm 和 260nm 两处波长分别测得光密度值、再按下列公式计算。

1、 $\text{OD}_{280} / \text{OD}_{260} < 1.5$ 时, 用 Lowry-Kalokar 公式:

样本蛋白质含量(mg / ml) =
 $1.45\text{OD}_{280} - 0.74\text{OD}_{260}$

2、 $\text{OD}_{280} / \text{OD}_{260} > 1.5$ 时, 用 Lamber-Beer 定律计算:

样本蛋白质含量(mg / ml) = $\text{OD}_{280} / K \times L = (\text{OD}_{280} / 6.3 \times 1) \times 10\text{g} / \text{L}$
本实验样品: 牛血清白蛋白 $E1\% \text{cm} = 6.3$ ($100\text{ml} / \text{cm.g}$)

K : 克分子消光系数; $E1\% \text{cm}$: 百分比吸光度的吸光系数;

注: 不同蛋白质中的酪氨酸和色氨酸含量有差异, 故标准管与测定管的蛋白质氨基酸组成应相似, 以减小误差。

【器材】

(一)UV-9200 紫外分光光度计

(二) 50ml 容量瓶

【试剂】

(一) 生理盐水

(二) 清蛋白(人或牛)纯品

(三) 待测样本蛋白质: 用双缩脲法测定蛋白质的样品用生理盐水稀释而成。

实验四 考马斯 (Comessie)亮兰结合法测定蛋白质浓度

考马斯亮兰结合法是近年来发展起来的蛋白质定量测定法。本方法具有操作方便、快速、干扰因素少的特点。

【原理】

考马斯亮兰能与蛋白质的疏水微区相结合, 这种结合具有高敏感性, 考马斯亮兰 G-250 的最大光吸收峰在 465nm , 当它与蛋白质结合形成复合物时, 其最大吸收峰改变为 595nm 。考马斯亮兰 G-250-蛋白质定量测定的高敏性度。

在一定范围内, 考马斯亮兰 G-250-蛋白质复合物呈青色。在 595nm 下, 光密度与蛋白质含量呈线性关系。故可以用于蛋白质含量的测定。

【操作】(常量法)

(一) 标准曲线制备:

配制 $1\text{mg} / \text{ml}$ 的标准蛋白溶液。制备系列稀释液, 其浓度分别为 $1000\mu\text{g} / \text{ml}$, $500\mu\text{g} / \text{ml}$, $250\mu\text{g} / \text{ml}$, $125\mu\text{g} / \text{ml}$, $62.5\mu\text{g} / \text{ml}$ 和 $31.25\mu\text{g} / \text{ml}$ 。

按下表操作:

摇匀, 室温静置 3 分钟。在第一管为对照管, 在 721 型分光光度计于波长 595nm 处比色-读取光密度。以各管光密度为纵座标, 各标准样品浓度($\mu\text{g} / \text{ml}$)作为横座标作图得标准曲线。

(二) 未知样品测定:

取血清 0.25ml 直接置于 50ml 容量瓶中, 加生理盐水至刻度, 摆匀。(此法样品稀释 200 倍)。

取试管二只, 按下表操作:

摇匀，静置3分钟，在721型分光光度计亡波长595nm比色，读取光密度，查标准曲线，求得稀释样品蛋白质浓度。

【计算】

未知样品蛋白质浓度 $\mu\text{g} / \text{ml}$ =稀释样品浓度 \times 稀释倍数

【优缺点】

(一)操作简便、快速；检测灵敏；重复性好。

(二)显色迅速。约于2分钟内完成染料与蛋白质的结合。所现颜色至少在1小时内是稳定的。

(三)与改良Lowry氏法相比，干扰物质较少。

(四)当样品中存在较大量的十二烷磺酸钠(SDS)、TritonX-100等去垢剂时，显色反应会受到干扰。如样品缓冲液呈强碱性时也会影响显色，故必须预先处理样品。

(五)考马斯亮兰G250染液不宜久存，以1-2月为宜。

(六)微量法测定蛋白含量范围为1-10 μg ；常量法测以检测范围10-100 / μg 为宜。

【器材】

(一)试管10支

(二)吸管10ml、15ml、1ml、0.1ml各1支。

(三)721分光光度法，普通比色杯4只。

【试剂】

(一)0.9%NaCl

(二)待测血清

(三)标准血清

(四)染液：考马斯亮兰G250 0.1克溶于0.5 ml 95%乙醇。再加入100ml 85% (W / V) 磷酸。然后加蒸馏水定容到1000ml。[此时溶液为0.01%考马斯亮兰G250 / 4.7

$\%(\text{W} / \text{V}) / \text{乙醇} / 8.5\%(\text{W} / \text{V})$ 磷酸]。

实验五 BCA法测定蛋白质浓度

【原理】：

BCA(bicinchoninic acid)与二价铜离子的硫酸铜等其他试剂组成的试剂，混合一起即成为苹果绿，即BCA工作试剂。在碱性条件下，BCA与蛋白质结合时，蛋白质将Cu²⁺还原为Cu⁺，一个Cu⁺螯合二个BCA分子，工作试剂由原来的苹果绿形成紫色复合物，最大光吸收强度与蛋白质浓度成正比。

【操作】

标准曲线的绘制：取试管七支、编号，按下表操作：

【计算】

(一) 绘制标准曲线。

(二) 以测定管吸光度值，查找标准曲线，求出待测血清中蛋白质浓度(g/L)。

(三) 再从标准管中选择一管与测定管光密度相接近者，求出待测血清中蛋白质浓度(g/L)。

【优缺点】

(一) 操作简单，快速，45分钟内完成测定，比经典的Lowary法快4倍且更加方便；

(二) 准确灵敏，试剂稳定性好，BCA试剂的蛋白质测定范围是20-200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，微量BCA测定范围在0.5-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

(三) 经济实用，除试管外，测定可在微板孔中就进行，大大节约样品和试剂用量；

(四) 抗试剂干扰能力比较强，如去垢剂，尿素等均无影响。

【器材】

(一) 7220型分光光度计

(二) 恒温水浴箱

(三) 中试管7支

(四) 枪式移液管

【试剂】

1、 试剂A: 1%BCA二钠盐

2%无水碳酸钠

0.16%酒石酸钠

0.4%氢氧化钠

0.95%碳酸氢钠

混合调PH值至11.25。

2、 试剂B: 4%硫酸铜。

3、 BCA工作液: 试剂A 100ml + 试剂B 2ml混合。

4、 蛋白质标准液: 用结晶牛血清白

蛋白根据其纯度用生理盐水配制成1.5mg/ml的蛋白质标准液。（纯度可经凯氏定氮法测定蛋白质含量而确定）

5、 待测样品: 用双缩脲测定法的样品稀释而成。

此法测定蛋白质浓度, 近些年被科研工作者广泛选用。目前BCA法的试剂盒市面有售。

总之, 虽然蛋白质含量的测定方法很多, 但是, 还没有一个完美的方法。在选择测定方法时, 可根据实验要求和实验室条件决定。



康成生物全基因组表达谱芯片特价限时促销!

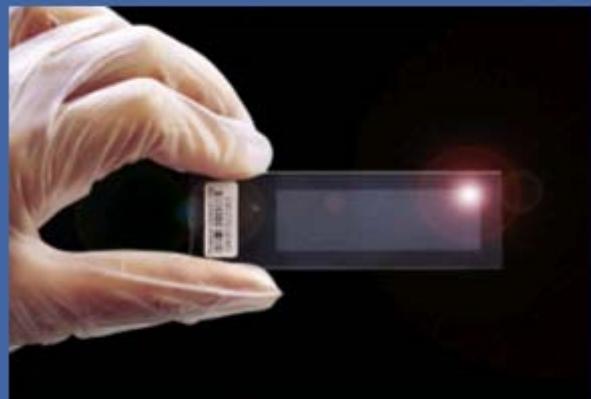
高贵品质 实惠价格

Superior Quality

Affordable Price

芯片及全程服务

每标本仅**3999**元



康成生物免费咨询电话: 800-820-5058 网址: www.kangchen.com.cn

[详情请点击查看>>](#)

本特价活动适用范围:

*客户与本公司洽谈实验服务合同时提供本特价通知, 并于2007年8月1日至2007年9月30日之间完成实验服务合同的签定及60%预付款的支付。

康成生物

KANGCHEN®

Excellence for Research



《细胞》《科学》两篇文章发表 酶学研究新突破

生物通报道：酶是生物体活细胞产生的具有特殊催化活性和特定空间构象的生物大分子，包括蛋白质及核酸，又称为生物催化剂。这种重要的生物分子一直以来都是科学家们研究的重点之一，近期在《Science》和《Cell》杂志上分别报道了两项重要的成果。

原文检索：Science 27 July 2007:Vol. 317. no. 5837, pp. 513 - 516 DOI: 10.1126/science.1144130
Spring-Loaded Mechanism of DNA Unwinding by Hepatitis C Virus NS3 Helicase [[Abstract](#)] Cell, Vol 130, 335-347, 27 July 2007A Metabolic Sensor Governing Cell Size in Bacteria [[Abstract](#)]

第一篇文章中，来自耶鲁大学、伊利诺斯州立大学和霍华德医学研究所的研究人员利用伊利诺斯大学研制的一种跟踪单个 RNA 或 DNA 分子解链过程的技术，研究丙型肝炎病毒解链酶的作用。

弄清复制的潜在机制并非易事。结构学研究涉及到结晶 DNA—蛋白复合体，观察它们作用的方式；生化学家着眼于反应的试剂，使用的能量以及各阶段的时间。这种研究同时测量成千上万个分子的行为，描述反应的全部参与者。

利用单分子荧光分析技术，研究小组跟踪丙型肝炎病毒解链酶 NS3 解开双链区有荧光标签的双链 DNA 分子。（NS3 解链酶起初与肝炎病毒单链 RNA 放松有关，但也能够作用于 DNA，说明这种解链酶在感染过程中，可能参与了解开宿主双链 DNA 的工作。）

随着双链分离，通过跟踪两个被标记的核苷之间越来越远的距离，研究人员能够测量解链速度。他们发现 DNA 解链位点是离散跳跃的：三个核苷对（碱基对）在解链之前彼此放松。“好像对弹簧施加张力，”研究人员 Taekjip Ha 说，“你为-弹簧加上小的机械运动，直到 DNA-蛋白复合体上聚集了引发三碱基对快速解链所需的足够张力。”

这种反应是强烈的，需要三磷酸腺苷

ATP（细胞能源）。研究结果显示每个解链反应需要消耗三个 ATP 分子，提示三个“隐藏步骤”每个解开一个碱基对。

尽管一个 ATP 所含的能量能够解开 10 个碱基对，但研究人员对这种高耗能反应并不感到奇怪。“复制过程中，解链酶与聚合酶手挽手，因此解链酶一次作用于一对碱基很合理，”研究小组带头人 Sua Myong 说，“这非常成体系，一个碱基对移动有助于聚合酶精确拷贝基因，每次拷贝一个碱基。”

解链酶也要绕过一系列障碍：与复制有关的蛋白和其它辅助因子，这需要额外的能量。他将 NS3 解链酶对能量的需求比作运载车的运动对能量的需求，发展一种低耗能的发动机是有意义的，因为需要额外的能量完成额外的工作。

Myong 注意到，NS3 是病毒基因组中唯一的解链酶，也属于四大解链酶超家族，因此新发现具有普遍意义。

生物体对其细胞的大小进行精确控制，以确保子细胞获得维持生存或特化为特定细胞所需的遗传材料。对于酵母和细菌等单细胞生命，营养的有效性（nutrient availability）是细胞大小的主要决定因素。动物细胞的大小主要是由一种感觉血糖-依赖的激素胰岛素分子控制的。第二篇文章中，华盛顿大学生物学家副

教授 **Petra Levin** 与其同事最近在枯草杆菌 (*Bacillus subtilis*) 中鉴别出一种将营养有效性与菌体大小联系起来的酶的三重奏。

Levin 等在 *B.subtilis* 中寻找控制细胞分裂时间和位点的因子。*B.subtilis* 是细菌研究的一种模式系统。通过研究这些简单生物调节分裂的方式,她希望能够更好地了解这些过程在癌细胞中出现差错的原因。

Levin 实验室一开始主要关注的是一种名为 **FtsZ** 的蛋白。**FtsZ** 是微管蛋白的前体,在人类细胞分裂中负责分离复制的染色体。细菌中, **FtsZ** 在预期分裂位点处形成一个环,然后募集分裂所需的所有其他成分,为整个分裂过程提供了支架。

调节 **FtsZ** 环形成的因子决定了细胞分裂的时间和位点。“理论上,细胞的分裂不受时间和地点的限制,” **Levin** 实验室研究生 **Brad Weart** 说,“细胞必须精确控制这个过程,以便在需要的时间和位点进行分裂。”

《Cell》文章报道, **Weart** 等在 *B.subtilis* 中鉴别出一种将细胞分裂和细胞大小联系起来的代谢传感器。这种传感器由之前被证实与细胞膜中一种修饰成分的合成有关的三酶途径组成。研究结果提示这种途径在细胞分裂时发挥主要作用,“目前,这是在细菌中鉴别出的唯一一种直接调节细胞大小的途径。”

一般情况下,生长在营养丰富环境中的细胞的体积比生长在营养贫乏环境中的细胞的体积大。**Levin** 实验室发现,编码这三种酶的基因发生突变导致细胞变小,即便细菌生长在营养丰富的环境中。“基本上,细胞无法通知

分裂器暂停下来等待体积达到合适的大小,”**Levin** 说,“似乎它们是生长在极为优良的培养基中,只是它们不知道。”进一步研究发现,突变动摇了 **FtsZ** 环的形成。细胞中, **FtsZ** 在未装配状态和装配状态之间存在一种平衡。酶的三重奏通过改变这种平衡调节 **FtsZ** 环的形成——当细胞生长在营养丰富环境中时,推动 **FtsZ** 向未装配状态运动以拖延细胞的分裂,增加细胞的体积。

途径中的三种酶对葡萄糖水平都很敏感,因此途径能够很好地将营养信息直接传递到细胞分裂器。营养贫乏时,酶不再抑制 **FtsZ** 组装,允许 **FtsZ** 环在细胞很小的时候形成,导致子细胞很小。途径中的第三种酶 **UgtP**,与 **FtsZ** 相互作用,防止环形成。**UgtP** 在低水平葡萄糖(营养贫乏条件)时变得不稳定,形成无活性的聚合体。

途径中断会导致染色体分裂出现缺陷。细胞如果太小,则不能有效将其 **DNA** 从分裂位点移开,导致子细胞经常得不到足够的遗传材料。根据生长率协调细胞大小,细胞能够维持 **DNA** 的正确分配。

这项工作也是对基因组测序局限性的一个警示。“我们越来越多,越来越频繁地发现代谢酶有不止一种功能,”**Levin** 说,“它们的序列没有提示它们有其它活性,因此需要你深入研究,应用不同的方法对其进行鉴别。”**Levin** 强调,她的研究结果只揭示了细胞大小控制领域的冰山一角,但鉴别 **ugtP** 等基因有助于更精确地预测一个细胞的体积。(生物通: 万纹)





《自然》：生死一线的关键操纵者

生物通报道：来自 VIB 和比利时 Leuven 天主教大学的研究人员揭示出一种能解释植物应对胁迫（stress）复杂途径的新机制。这种新发现的控制系统能调控数百个基因的活动，从而使植物能够进入安全模式。当生物体受到刺激以启动储能的同时，能量降低。这种状态可能对植物生长产生负面影响，但是却能让植物临时保护自己不受有害胁迫条件的损害。这些发现还可能拓展到植物以外的生物，而且这些结果可能对了解像癌症和糖尿病等疾病具有一定的价值。

植物能够捕获阳光，并利用光作为合成糖的一种能源。它们是食物链的最底层。最终，地球上的所有生物体都要依赖这种光合作用。没有植物，今天我们所知道的这些生命体就不可能存在。但是，如果阳光太少会发生什么情况呢？植物面临的其他胁迫状况都是什么？化境变化能够使光合作用大打折扣并且消耗能用。

幸运的是，植物进化出了不同的机制来检测和处理这些胁迫。VIB 与哈佛医学院的研究人员发现了一种新的检测和控制系统。该系统由 KIN10 和 KIN11 两种激酶驱动。这些也在人体中表达的激酶能够对能量短缺做出应答，例如阳光太少或糖产出太少。它们能够控制一个基因网络的活动，促进从替代资源释放能量（异化作用）并抑制它的同化作用（合成代谢）。用这种方法，植物能够保护自己不受胁迫调节的破坏。

这项研究利用拟南芥作为模式生物。在数十年的时间里，这种小草已经成为植物分子和遗传研究的一种经典模型。研究人员分析了影响光合作用和能量生产的大量胁迫条件，如黑暗、除草剂处理和水淹（会造成缺氧）。他们发现，通过表达 KIN10 基因（使植物产生更多的 KIN10 蛋白），胁迫耐受力明显增加并且植物能够存活更长的时间。相反，关闭这些基因的表达，其控制功能也被敲除。

通过这项研究，Flemish 和美国的同时首次成功证实了 KIN10 和 KIN11 是控制植物能量预算和代谢以及生长和存活间脆弱平衡（简单地说就是生与死的选择）的关键因子。

研究人员表示，这项研究获得的发现不仅仅局限于植物的功能，它们还可能对人类也同样重要。控制一整套基因表达的 KIN10 和 KIN11 也存在于哺乳动物中。因此，由植物研究得到的这些结果还可能有助于研究人员确定出这些蛋白质在人类疾病中的新功能。

光合作用(Photosynthesis)是植物、藻类和某些细菌利用叶绿素，在可见光的照射下，将二氧化碳和水转化为葡萄糖，并释放出氧气的生化过程。植物之所以被称为食物链的生产者，是因为它们能够通过光合作用利用无机物生产有机物并且贮存能量。通过食用，食物链的消费者可以吸收到植物所贮存的能量，效率为 30% 左右。对于生物界的几乎所有生物来说，这个过程是他们赖以生存的关键。而地球上的碳氧循环，光合作用是必不可少的。

古希腊哲学家亚里士多德认为，植物生长所需的物质全来源于土中。荷兰人范·埃尔蒙做了盆栽柳树称重实验，得出植物的重量主要不是来自土壤而是来自水的推论。他没有认识到空气中的物质参与了有机物的形成。

1771 年，英国的普里斯特利发现植物可以恢复因蜡烛燃烧而变“坏”了的空气。1773

年,荷兰的英恩豪斯证明只有植物的绿色部分在光下才能起使空气变“好”的作用。1804年,瑞士的索绪尔通过定量研究进一步证实二氧化碳和水是植物生长的原料。1845年,德国的迈尔发现植物把太阳能转化成了化学能。

1864年,德国的萨克斯发现光合作用产生淀粉。1880年,美国的恩格尔曼发现叶绿体是进行光合作用的场所。1897年,首次在教科书中称它为光合作用。(生物通雪花)



您关注的基因,您需要的产品, YFG为您瞬间精彩呈现!
现在就试试吧!

全基因组扩增 Whole Genome Amplification

超出传统PCR的局限
无可比拟的均一性与得率
无限的可能… …

Sigma-Aldrich 有专职的R&D科学家团队,全心全意为您提供最好的全基因组扩增产品。

GenomePlex™ Whole Genome Amplification (WGA) 可以有效而精确的扩增**纳克级**的起始样本基因组DNA, 得到**微克级**的DNA, 同时最大程度的避免等位基因的缺失。经过GenomePlex扩增的DNA适合各种下游应用, 包括电泳、定量PCR、CGH芯片、STR分析、SNP分析和测序等。

- **适用样本来源广**, 包括: 全血、Blood card、血浆、血清、口腔拭子、植物、土壤、FFPE组织、单个细胞;
- **完好的基因组代表性**, 无可检测到的等位基因偏好性
- 专用的WGA DNA聚合酶是扩增的精确性更好
- 保护稀有的资源样本, 在数小时内扩增纳克级的起始样本基因组DNA, 得到微克级的DNA
- 广泛的下游应用: 定量PCR、芯片分析、SNP分析和测序等

GenomePlex™ 技术简介:

GenomePlex™ 产品源于一项专利扩增方法, 该方法的基础是把基因组随机片断化, 形成一系列短且重叠的模板。这些短链的DNA形成一个3' 端与5' 端有特定序列组成的文库, 称为OmniPlex文库。然后再进行线性、等温的起始扩增, 继以有限循环数的基因组扩增 (PCR)。常规的GenomePlex反应只需要很少的手工操作时间, 可以在**3小时内**得到扩增的DNA。

Sigma-Aldrich (上海)贸易有限公司

热线电话: 800-819-3336

Email: orderCN@sial.com ; china@sial.com

上海 •

地址: 上海市淮海中路398号世纪巴士
大厦22楼A-B座
电话: 021-61415566
传真: 021-61415568
邮编: 200020

北京 •

地址: 北京市朝阳区建国路118号
招商局大厦18层G-H座
电话: 010-65688088
传真: 010-85801346
邮编: 100020

广州 •

地址: 广州市体育东路南方证券
大厦1906房间
电话: 020-38840730
传真: 020-38840679
邮编: 510610

PNAS: 蛋白质、干细胞和可能的治痴呆药物

生物通报道: 由 Central Florida 大学的 Kiminobu Sugaya 教授领导的一个研究组的新研究可能找到了一条治疗阿尔茨海默症的新途径。

这个研究组将干细胞移植技术与一种新发现的化合物 **phenserine** 联合使用。这种方法将阿尔茨海默症的一个标志物——淀粉体斑块的量明显降低。这种联合方法促进那些被阿尔茨海默症破坏的神经元的再生，并且是健康大脑功能所必须的。这项研究的结果刊登在 7 月 24 日的 **PNAS** 杂志上。

据统计, 目前在美国大约有 500 万人罹患阿尔茨海默症——最常见的痴呆症类型。因此, 这些发现对许多研究人员来说都具有重要的意义。

Sugaya 表示, 如果在小鼠身上获得的这项成功能够在人类大脑中重现, 那么将为患者和家属带了新希望。

Sugaya 一生都在从事大脑的研究。六年前, 他报道说移植给老年大鼠的大脑干细胞似乎能够变成功能性的神经元, 并且能够改善衰老相关的记忆力丧失而无任何副作用。

Sugaya 发现, 过剩的淀粉体前体蛋白

(APP) 能够阻止干细胞形成神经元。该研究组利用 **phenserine** 来治疗能产生人类 APP 的阿尔茨海默症小鼠模型, 这种药物能够减少大脑中 APP 的量。结果发现, 受处理小鼠的大脑中 APP 的水平减少了 50%, 这种处理可能为大脑干细胞变成神经元提供最佳的条件。在这种环境下, 研究组发现移植到大脑的干细胞成功产生了神经元。

许多人相信, 科学家一旦掌握了利用干细胞创造出组织的方法, 那么大多数与斑块有关的疾病就能在一夜间消除掉。但是 **Sugaya** 和他的研究组证实, 事情并没有那么简单。

Sugaya 目前正在研究将 **phenserine** 和化合物 **NBI-18** 联合使用是否能够治疗阿尔茨海默症。**NBI-18** 能够将大脑干细胞增加 6 倍。神经元的增加可能对改善大脑功能具有重要作用。



Miltenyi Biotec

德国美天旎生物技术公司

德国美天旎生物技术公司

是一个以细胞分选技术为主、拥有多样化产品的生物技术公司。开发研制并销售世界上最先进的细胞分选、细胞生物学、相关分子生物学产品和技术, 尤其在干细胞分选、DC 细胞分选与分析、细胞因子分泌细胞分选与分析、免疫治疗、再生医学方面占有极大的优势, **CD133**、**BDCA-2**(**CD303**)、**BDCA-4**(**CD304**) 单抗为我公司专利产品。

我公司总部位于德国科隆, 在科隆和德国北部罗斯托克均有 cGMP 生产机构。我们的产品有免疫磁珠、特异性细胞及蛋白质或者 DNA/RNA 分选用的 MACS 分选设备、单克隆抗体、无菌溶液、基础和特殊培养基、血液/血浆治疗用的生物学吸附剂、LIFE18 血浆分离机、流式细胞仪及相关耗材。





一些最老的生命形式被发现

生物通报道：澳大利亚昆士兰大学的研究人员在地球上一些保存最久的有机材料中发现了有 35 亿年历史的一些最古老的微生物遗体。这个由 Miryam Glikson 等人领导的研究队伍首次确定性地证实了这些有机材料的本质和来源。这项研究的结果发表在近期的 *Precambrain Research* 杂志上。

Golding 博士表示，之前的研究利用间接的分析方法进行研究，而这类方法只能揭示出微生物的内含物而不能证实它就是微生物。

该研究组利用了复杂且耗时的电子显微镜技术来确定微生物遗体。他们将观察分析技术和微生物分析技术结合起来进行鉴定。

研究人员还对化石微生物结构和在海底发现的距今 35 亿年前的原始微生物进行了比较。结果发现，培养的微生物体在瓦解阶段的结构和那些古老的微生物遗体存在很多相似之处。

有关谁是地球上最古老的生命形式一直存在争议。在过去的 10 多年里，研究生命起源的研究人员将这个头衔给了一群生活在 80 到 90 度高温的地热口和温泉的细菌——超耐温菌。但是 2002 年的一项研究则挑战了这个认识，该研究发现这个头衔应该给一种存活条件更温和的细菌。

越来越多的证据表明，耐热细菌并非第一个出现在地球的生命形式。研究发现位于进化数基部的物种实际上一种耐寒细菌类群——浮霉状菌目 (*planctomycetales*)。这种细菌具有一些奇怪的特征，如染色体外包被一个单层或双层膜。

法国巴黎的研究人员从现存的浮霉状菌中提取核糖体 RNA 进行测序，并利用一种计算机程序来分析测序数据。因为所有细胞生物都含有核糖体 RNA，所以核糖体 RNA 被视为

研究生命进化的一个强有力的依据。研究人员将研究的重点放在了核糖体 RNA 分子突变速度很慢的部分，由于这个部分在进化中保守性较高，因此能够揭示出生物体之间的古老关系。

事实上，在 20 多年前就有研究人员提出浮霉状菌才是最古老最早的细菌，但后来被超耐热菌所取代。（生物通雪花）

延伸阅读 我国重组微生物制品发展迅速

在国家 863 计划支持下，“十五”期间我国重组微生物制品发展迅速，多项产品取得显著效果。

(1) 聚羟基脂肪酸脂 (PHA)。微生物生物合成的聚羟基脂肪酸酯 PHA 具有生物可降解性、生物相容性、憎水性、气体阻隔性、压电性、非线性光活性、不同官能团所带来的特殊性能等。本年度进一步改善了新型高分子材料 HBHHx 机械性能和加工性能，进一步发现新型高分子材料 PHBHHx 具有对神经细胞、软骨细胞等的生物相容性，加上 PHBHHx 的优良机械性能和生物降解性，为 PHBHHx 的高附加值应用提供了一个良好的发展前景。成立了 PHA 应用开发公司—北京天助生物材料公司，并建立了 PHA 的生产基地—联亿生物工程公司。

(2) 微生物发酵生产甘油。将这外源性产甘油关键基因导入了耐高渗粉状毕赤酵母

基因组中,最终获得了可用于工业化生产的工程菌株。通过 5 吨规模的工业型发酵试验证明该菌株克服了传统菌株甘油产率及全糖转化率低的缺点。试验结果甘油平均含量可达 16%, 平均全糖转化率 55%, 较传统工艺技术指标分别提高了 60% 和 37%。另一方面, 该菌株产甘油为好氧发酵, 在发酵工艺上引入射流技术, 改善发酵液中的溶氧条件, 将发酵周期从传统的 120 小时缩短到目前 100 小时, 大大降低了生产能耗。中试成果通过四川省科技厅成果鉴定, 中试产品通过了国家药品监督管理局行标优等级甘油质量检验, 国家发改委立项“高产工程菌株发酵生产医药级甘油高技术产业化示范工程”。目前正在建立一个 3000 吨规模发酵甘油产业化示范基地。

(3) 利用重组酵母菌生产饲料用酶。研制的单胃畜禽用植酸酶和中性植酸酶 2002 年 7 月获得科技部、环保总局等 6 部委颁发的国家重点新产品证书。“利用基因工程酵母生产植酸酶”技术获 2001 年度国家科技进步 2 等奖。饲料用高比活植酸酶 2004 年前 10 个月生产并销售产品超过 1000 吨, 产值超过 5000 万元, 占据了国内现有植酸酶市场的一半以上, 并出口到东南亚和欧洲国家。饲料用木聚糖酶已完成试生产, 正在培育市场, 产品

陆续销售。

(4)



全新 illustra dNTPs: 高纯度的核苷酸



高纯度的 illustra dNTPs 已通过 Long PCR 的功能测试。

网址: www.gelifesciences.com.cn 电邮: lifesciences@ge.com

详情请与通用电气(中国)医疗集团各办事处联系: 免费咨询热线: 800-810-9118



农药残留降解制剂。分离到高效农药残留降解菌株达 150 多株, 建立了种类较为齐全的农药降解菌种库, 申请了有机磷农药残留降解菌及其生产的菌剂、甲基对硫磷水解酶降解基因、一种呋喃丹农药残留降解菌及其生产的菌剂 3 项专利。获得农业部临时产品许可证和国家级新产品证书; 累计推广面积达到 100 万亩次, 形成了“城乡牌”无公害韭菜、“超健牌”绿色食品金丝小枣和“土桥牌”、“农惠”牌绿色食品大米。2002 年农药残留降解菌剂获得国家优秀专利奖。2004 年农药残留微生物降解技术的研究与应用, 获得农业部全国农牧渔业丰收奖。

(5) 酶法生产海藻糖。开发出“直接从淀粉生产海藻糖”的新技术, 在广西建成海藻糖的生产基地。产品通过了成果鉴定, 符合国际同类标准 (纯度>99%)。在原有年产 200 吨海藻糖生产线基础上, 扩建年产 500 吨的生产线基本完成, 预计 2005 年初可以投产。目前产品国内市场需求不断增加, 同时出口到欧盟、东南亚等国家。申请谷氨酸棒杆菌海藻糖合成酶基因及海藻糖制造方法、放射性异常球菌海藻糖合成酶基因及海藻糖制造方法和 *T. fusca* 海藻糖合成酶基因及海藻糖制造方法等发明专利 3 项。



多中心研究发现新肺癌抑制基因

生物通报道：美国波士顿和北卡罗莱纳州的研究人员合作发现一种特殊的基因能够抑制小鼠肺癌进程的关键步骤。研究人员将这些发现公布在8月5日的《自然》杂志的网络版上。这种叫做LKB1的基因在小鼠中不但是非小细胞肺癌的一种肿瘤抑制基因，而且其功能还可能比其他已知的抑制因子更加强大。

如果进一步的研究能够证实LKB1在人类肺脏细胞中也有相同的效果，那么这种基因将可能影响到非小细胞肺癌的诊断和治疗方式。如果携带LKB1突变的肿瘤生长的尤其迅速，那么具有这种肿瘤的患者或许就可以采用更激烈点的疗法来治疗。

出生时就携带LKB1缺陷版本的人往往会发生Peutz-Jeghers综合症，其主要特征是肠道生长和特定癌症风险的增加。这种基因的非遗传性突变在一些肺癌中存在。这意味着LKB1正常情况下能够抑制肿瘤的形成。突变版本的这种基因则不能起到癌症“刹车”的功能。（Peutz-Jeghers综合症又称皮肤粘膜黑色素斑—胃肠多发性息肉综合症，具有三大特征：多发性胃肠道息肉；特定部位的皮肤及粘膜的黑色素斑点；遗传性。）

在实验中，研究救人员对携带Kras基因的一种缺陷版本的小鼠进行了一系列实验，这种基因缺陷促进肺癌的形成和生长。研究人员追踪了携带LKB1突变的小鼠体内的肺癌的发生，并且将其与两种已经研究较多的肿瘤抑制基因导致的异常情况进行比较。

他们发现，当Kras与突变的肿瘤抑制基因合作时会导致肺癌的发生，并且与突变的LKB1同时存在时更加强烈。缺失LKB1的肿瘤生长的更快，并且比其他情况下更容易扩散。研究表明，LKB1在肺肿瘤的发展重要阶

段（起始、正常肺脏细胞向癌细胞的分化和转移）起到重要作用。另外，对人类非小细胞肺组织的一项检测表明，LKB1突变也起到一定作用。

肺癌是一种常见的肺部恶性肿瘤，其死亡率已占癌症死亡率之首。绝大多数肺癌起源于支气管粘膜上皮，近年来，随着吸烟和各种环境因素的影响，世界各国特别是工业发达国家，肺癌的发病率和病死率均迅速上升，死于癌病的男性病人中肺癌已居首位。据上海市恶性肿瘤统计资料，在男性癌肿病例中，肺癌发病率急剧增多，居第一位。肺癌的分布情况右肺多于左肺，下叶多于上叶。起源于主支气管、肺叶支气管的肺癌称为中央型肺癌。起源于肺段支气管远侧的肺癌，位于肺的周围部位者称为周围型肺癌。绝大多数肺癌起源于支气管粘膜上皮，但亦有少数癌肿起源于肺泡上皮或支气管腺体。癌肿在成长过程中一方面沿支气管壁延伸扩展，并穿越支气管壁侵入邻近肺组织形成肿块，同时突入支气管内造成管腔狭窄或阻塞。癌肿进一步发展播散则可从肺直接蔓延侵入胸壁、纵隔、心脏、大血管等邻近器管组织；经淋巴道血道转移到身体其他部位或经呼吸道播散到其他肺叶。癌肿的生长速度和转移扩散途径取决于癌肿的组织学类型、分化程度等生物学特性。（生物通雪花）

肺癌共有四种不同类型：

- 1) 小细胞肺癌：产生于肺的内分泌细胞；
- 2) 非小细胞肺癌：包括
 · 鳞癌，产生于大气道上皮细胞；
 · 腺癌（包括大细胞癌），产生于肺的分泌区；
 · 支气管肺泡癌，产生于小气囊上皮或肺泡上皮。

其中每一类型的癌都保持着所在肺区的

细胞特性，因此不同类型的癌其行为学特性亦不同。为简便计，我们将肺癌的四种类型分成两大类：

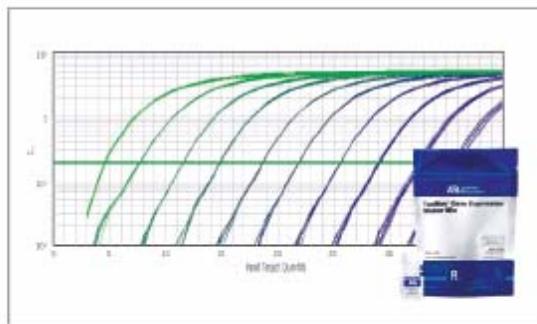
- 1) 小细胞肺癌，产生于肺的内分泌细胞；
- 2) 非小细胞肺癌，即所有其它类型。正如我们将要阐述的，对肺癌类型的正确判断，尤其是对肺癌转移部位的精确判断，是我们制定治疗方案的关键。这两个关键因素还将决定所选治疗方案的大致疗效。

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：2007.7.1-9.30

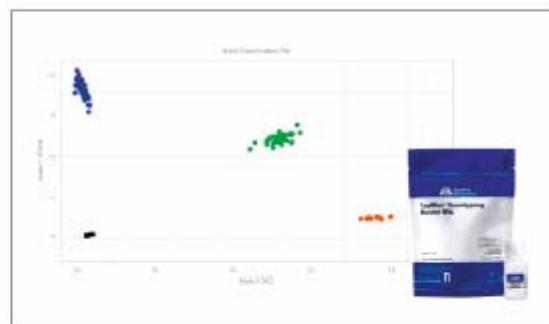


基因表达通用混合试剂

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

AB Applied Biosystems

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



《科学》：蛋白折叠研究新突破

生物通报道：利用机械力，来自美国费城宾西法尼亚州大学和 Wistar 研究所的研究人员成功打开了细胞骨架蛋白（Cytoskeletal proteins）的折叠结构。这项公布在 8 月 3 日的《科学》杂志上的研究加深了研究人员对细胞行为的了解，并且可能为药物开发提供新标靶。

已经知道，细胞每时每刻都在承受各种机械力的作用：一些力是由肌体内部的流动产生的，而另一些力则来自细胞之间的相互作用。

在这项新的研究中，Dennis Dische 教授领导的研究组正是利用机械应力来诱导细胞骨架蛋白产生构象变化。接着，研究人员利用荧光标记方法测定了这些蛋白的分子序列，进而确定出一些隐藏的蛋白绑定结合位点——这些位点在细胞处于静态和自由状态时是无法发现的。为了确定受压力细胞中改变构型或装配的细胞骨架蛋白，研究人员利用荧光基团对在空间位置上被遮蔽的半胱氨酸进行原位标记，然后用荧光成像、定量质谱和连续的双染色标记方法进行分析。

研究人员分别对红细胞和干细胞进行了类似的实验，都取得了成功。在红细胞中，鸟枪式标记方法显示两种细胞骨架蛋白质血影蛋白的两种构型中的被遮蔽半胱氨酸在切应力（shear stress）作用下容易被标记。这一结果突破了长期以来，研究人员打开蛋白折叠需要借助化学反应的一般方法。

由于生物体内的各种生化反应的真正执行者是各种各样的蛋白质，而蛋白质的装配结构和反应特性则是这些过程的基础。研究人员往往将蛋白质的某些特别区域作为新型药物开发的标靶位点。但是，想要找到这些靶标位点就需要首先了解清楚蛋白质的折

叠、装配和功能等基础信息。（生物通雪花）

切应力

物体由于外因(受力、湿度变化等)而变形时，在物体内各部分之间产生相互作用的内力，以抵抗这种外因的作用，并力图使物体从变形后的位置回复到变形前的位置。在所考察的截面某一点单位面积上的内力称为应力。同截面相切的称为剪应力或切应力。

在液体层流中相对移动的各层之间产生的内摩擦力的方向一般是沿液层面的切线，流动时液体的变形是这种力所引起的，因此叫做切变力（又叫剪切力），单位面积上的切变力叫做切应变力，又称切应力。

流体力学中，切应力又叫做粘性力，是流体运动时，由于流体的粘性，一部分流体微团作用于另一部分流体微团切向上的力。

血影蛋白

血影蛋白 spectrin 存在于哺乳类动物红细胞膜的内面（细胞质侧）。是类似肌球蛋白的膜的外在性蛋白之一种。是膜里侧结构蛋白（参见细胞膜里侧结构）之一，除起支持双层脂质外，还有保持红细胞外形的作用，占里侧结构蛋白之 60—70%。用低浓度盐溶液抽提可从膜游离出来。在 37℃下抽提，则得到化学性、结构性都很相似的分子量 24 万的 α - 亚单位（1 带、构成红细胞的蛋白质多以十二烷基硫酸钠存在下的电泳带的号数来称呼。参见红细胞膜（表））以及分子量 22

万的 β -亚单位(2带)所组成的长约100纳米的线状二聚体。而如果在低温下提取，则得到由2分子二聚体相接的四聚体。关于红细胞的里侧结构，由血影蛋白的四聚体与短

的肌动蛋白线状体或4.1带蛋白相结合，形成网状结构，另一方面与膜之间通过锚蛋白(ankyrin, 2.1带)与作为膜蛋白的3带蛋白质结合。

2005/06



2002/03



2000/01



1998/99



1996/97



1995



1993/94



1992



1990/91



1988/89



1986/87



1985/86



1983/84



1982/83



1981/82



1980/81



1979



1978



1975/76



2007/08
NEB 产品目录
及技术资料
开始发放！



- AACR生命科学最佳目录奖
- 全新详尽的产品信息
- 完整实用的技术资料
- 不可缺少的分子生物学实验助手

您可以通过以下途径索取
 联系NEB当地代理商
 e-mail至 info@neb-china.com
 登陆 www.neb-china.com



NEB完美品质 成就科学梦想
 NEB(北京) 100083 北京海淀区王庄路1号清华同方科技广场B座0612
 电话: 010-82378265/6 传真: 010-82378262 网站: www.neb-china.com 邮箱: support@neb-china.com



《科学》：免疫系统历史 比我们想象的悠久

生物通报道：来自美国 Baylor 医学院的研究人员在 8 月 3 日的《科学》杂志上发表的一篇文章报告说，他们惊讶地发现，非常古老的变形虫（social amoeba，也称阿米巴虫）体内具有免疫系统。这一发现将加深人们对单细胞生物向多细胞生物转变的认识。

变形虫身体仅由一个细胞构成，没有固定的外形，可以任意改变体形。同时变形虫也能在全身各处伸出伪足，主要功能为运动和摄食。它们一般是以单细胞藻类、小型单细胞动物作为食物。当碰到食物时，变形虫会伸出伪足进行包围，由细胞质里面的食物胞消化。

当单个变形虫面临生存压力如饥饿时，这些单细胞生物会结合起来，形成可以移动的多细胞生物蛞蝓（slug）。蛞蝓能够制造新的细胞并完成特定的孢子生殖功能。

在这项新研究中，Baylor 医学院的 Adam Kuspa 教授和同事在蛞蝓体内发现了一种新的具有免疫功能的噬菌细胞，他们将其命名为“哨兵细胞”（sentinel cell，以下简写为 S 细胞）。

研究发现，当这种“S 细胞”在蛞蝓体内循环流通时，吞噬入侵的细菌并且隔绝毒素，从而最终将它们排出体外。研究人员证实，Toll/Interleukin-1 受体蛋白（TirA）是行使一些 S 细胞功能所必须的，并且也是变形虫吞食活细菌所必须的。变形虫的这种先天免疫功能以及吞食细菌时对 TirA 的利用，揭示出了一种古老的细胞搜寻机制。这种机制可能在动物分化前很好起到防御功能。

研究人员表示，蛞蝓体内的这种信号路径与植物和动物中的十分类似，而在真菌中尚没有发现这种调控机制。

Kuspa 表示，近十年来，变形虫逐渐被认为是最主要的四类真核生物形式之一，他们分别是植物、动物、真菌和变形虫。而这四类生物中已有三类被证实存在类似的免疫系统，因此研究人员推测所有多细胞动物的祖先都具有这一免疫机制。研究人员推测，从另一方面而言，单细胞生物转变为多细胞生物的一个特性很可能就是要识别自己，排除异己，而识别自己的“标志”很可能就是免疫系统。接下来，研究人员将进一步验证这项推论。

免疫系统（immune system）是机体保护自身的防御性结构，完备的免疫系统主要由淋巴器官（胸腺、淋巴结、脾、扁桃体）、其它器官内的淋巴组织和全身各处的淋巴细胞、抗原呈递细胞等组成；广义上也包括血液中其它白细胞及结缔组织中的浆细胞和肥大细胞。构成免疫系统的核心成分是淋巴细胞，它使免疫系统具备识别能力和记忆能力。淋巴细胞经血液和淋巴周游全身，从一处的淋巴器官或淋巴组织至另一处的淋巴器官或淋巴组织，使分散各处的淋巴器官和淋巴组织连成一个功能整体。免疫系统是生物在长期进化中与各种致病因子的不断斗争中逐渐形成的，在个体发育中也需抗原的刺激才能发育完善。免疫系统的功能主要有两方面：识别和清除侵入机体的微生物、异体细胞或大分子物质（抗原）；监护

机体内部的稳定性,清除表面抗原发生变化的细胞(肿瘤细胞和病毒感染的细胞等)。

免疫系统在识别机体自身和非自身的细胞或抗原中有两类细胞表面的结构特别重要:一类是T细胞和B细胞表面的特异性抗原受体;另一类是组织相容性抗原

(histocompatibility antigen),编码此类抗原的基因群称主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex),简称MHC,故此抗原又称MHC。MHC抗原在不同种动物

之间以及同种动物不同个体之间均有所不同,故具有高度的特异性,但一卵性孪生儿及同一体的所有细胞的MHC抗原则是相同的;因而异体移植的组织或器官均会引起机体的排斥反应。MHC抗原又分为两类:MHC-I类抗原,广泛分布于个体的所有细胞表面;MHC-II类抗原,仅分布于免疫系统的某些细胞表面,有利于细胞之间功能的相互协作,如识别抗原等。(生物通雪花)

GE Healthcare

最新抗体纯化技术 优惠推广中

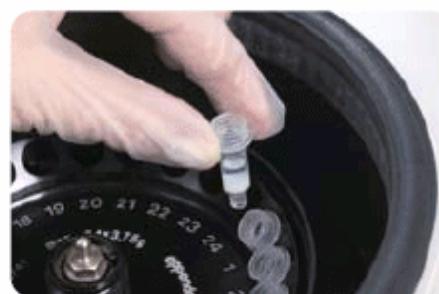


最新抗体纯化技术 优惠推广中 | Ab SpinTrap™ /Ab 试剂盒试用品火热申请中

Ab SpinTrap™ / Ab 试剂盒



图一 Ab SpinTrap 和 Ab 试剂盒



图二 Ab SpinTrap 配合微型离心机纯化多个不同样品

欢迎申请
试用品

[点击进入>>](#)

Ab SpinTrap 是为从血清和细胞培养液中快速纯化单克隆和多克隆抗体的小离心柱。这些小离心柱使客户可以从多个平行样品中纯化少量抗体。Ab SpinTrap 可以在标准的微型离心机使用,一次纯化总时间少于 20 分钟。样品无需经过过滤或离心等前处理,可直接上样。

网址: www.gelifesciences.com.cn
邮箱: lifesciences@ge.com
免费咨询电话: 800-810-9118

北京
北京经济技术开发区永昌北路1号
电话: (010) 5806 8888转69689
传真: (010) 67871162
邮编: 100176

上海
上海市虹桥开发区兴义路8号
万都中心24层
电话: (021) 5257 4650转67337
传真: (021) 5208 1282
邮编: 200336

广州
广州市建设六马路33号
宜兴广场1212室
电话: (020) 8363 3828转67961
传真: (020) 8363 3291
邮编: 510060

成都
四川省成都市新华大道文武路42号
新时代广场12层A-C座
电话: (028) 86782581
传真: (028) 86782582
邮编: 610017



10 种灵长类动物基因组研究成果公布

生物通报道：在最新一期的《基因组研究》杂志的网络版上，来自美国科罗拉多卫生科学中心大学和斯坦福大学的研究人员公布了一项大规模基因组研究的结果。

该研究的目的是分析调查 10 种包括人类在内的灵长类动物之间基因复制数量的差异，剩余九种灵长类动物分别为黑猩猩、大猩猩、倭黑猩猩、猩猩、长臂猿、短尾猿、狒狒、狨和狐猴。这项研究系统地分析了不同种系灵长类动物的基因和基因簇。在漫长的 6000 万年的进化过程中，这些基因曾发生过基因拷贝数的增加和缩减。

为了找出这 10 种灵长类动物之间基因拷贝数的差异，研究人员使用了含有 24000 多个人类 DNA 的芯片进行对比性基因杂交试验。接着，他们把人类的 DNA 样本与其它 9 种灵长类动物的 DNA 样本进行对比。这种对比分析使他们鉴定出一些特殊的基因和基因簇：这些基因和基因簇在进化过程中曾经历过特异性基因拷贝数的增加或减少。

研究人员表示，他们鉴定出的一些基因很可能与成就人类和其它 9 种灵长类动物的种间遗传特点有重要联系。为了证实这种可能性，研究人员集中精力重点分析了几种表现出非常显著的种间特异性的基因簇。

其中一个叫做 AQP7 (aquaporin 7，水通道蛋白 7) 的基因在人类中的特异性基因拷贝数的扩增能够解释为什么人类进化出长跑耐力。AQP7 的作用是进行水分和甘油的跨细胞膜传递。在人进行剧烈运动期时，AQP7 将促使人体利用糖原贮备。这种蛋白质还可以

帮助人类通过出汗来排除多余的热量。

此外，研究人员还表示，基因拷贝数的巨大差异与认知、繁殖、免疫和遗传病敏感性有潜在的关系。

水通道蛋白属于主体内在蛋白家族 (major intrinsic protein, MIP)，迄今为止，已在细菌、酵母、植物、昆虫和脊椎动物中发现至少 50 余种水通道。世界上第一个哺乳动物的水通道是由 Agre 等人于 1988 年发现的，1991 年确定了其反向转录脱氧核糖核酸 (cDNA) 顺序，随后进行了功能鉴定，证明了其协助细胞转运水的作用。

AQP0 (MIP26) 主要表达在眼晶状体，其基因变异可导致白内障。AQP1 (CHIP28) 分布极其广泛，在肾、肺、眼、血管、生殖道、消化道等上皮都有表达。AQP2 只局限于肾集合管主细胞内，并受血管加压素的调节。

AQP3 在肾等多种组织有表达，其特点是不仅能够转运水，也能转运甘油。AQP4 主要在脑，但在肾及呼吸道等多种组织亦有表达。AQP5 只见于唾液腺、泪腺等腺体组织。AQP6 其水通道活性类似 AQP0，但选择性表达在肾。AQP7 和 AQP8 主要见于睾丸中处于不同生长阶段的精子细胞中。AQP9 见于人外周血白细胞、肝脏、肺脏和脾脏等，但未见于胸腺。（生物通雪花）



新一批敲除小鼠序列数据存入基因银行

生物通报道：美国得克萨斯州基因组医学研究所将其敲除小鼠库的超过 275000 个核苷酸序列信息存入了美国国立卫生研究院的基因银行。

以休斯敦为根据地的得克萨斯州基因组医学研究所于今年 5 月加入国际敲除小鼠协会。在美国国立卫生研究院号召在国际科学界广泛分享小鼠研究信息后，该研究所表示愿意向美国健康研究院提供基因序列信息。

得克萨斯州基因组医学研究所表示，这些信息是从 C57BL/6 小鼠胚胎干细胞库抽取，并且存入基因银行的基因组调查序列分部。

该研究所表示，这次存入新型的规模是自 1982 年基因银行创立以来最大一次。基因银行 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)，是美国国家卫生院 (National Institute of Health, NIH) 于 1988 年成立，1992 年起，资料库即为 National Center for Biotechnology Information (NCBI) 所管理。

美国国立卫生研究院 (National Institutes of Health, NIH) 于 2006 年 8 月 7 日宣布将投资 5 千 2 百万美元，启动敲除小鼠计划 (Knockout Mouse Project)，目的是建立一个完善、免费的小鼠基因组突变基因数据库，并且用得到的基因突变小鼠品系帮助人类相关疾病研究。

NIH 理事 Elias A. Zerhouni 说：“敲除小鼠是研究基因功能的有力工具，并且可以得到人类相关疾病动物模型。”基因敲除小鼠是被彻底“破坏”或者说敲除某个特定基因的小鼠品系。系统性地依次破坏小鼠基因组中 20,000 个基因中每个基因，有助于研究人员能够更好地了解每个基因在正常生理条件下和发

育过程中的作用。更为重要的是，研究人员可以利用基因敲除小鼠研发能够为治疗癌症、心脏病、神经退行性疾病、糖尿病等人类遗传性疾病提供更为优秀的动物模型。最近发展的 DNA 重组技术以及小鼠基因组测序工作的完成将使敲除计划变的简易。

Wellcome Trust Sanger 研究室负责 5000 个基因，VelociGene division of Regeneron 研究室负责 3500 个基因，两个实验室都根据得到的小鼠基因组测序结果设计载体，然后获得每个基因相应的基因敲除小鼠干细胞。（实验动物为 C57BL/6 品系小鼠）其他实验室将上述两个单位研制的干细胞和载体应用与生物医学研究。NIH 打算将实验数据进行收集和整理，建立一个敲除小鼠计划数据中心。而且希望明年为敲除小鼠计划建立一个仓库，使所有实验材料能够对科研领域的每位成员开放。

NIH 此项敲除小鼠计划，将与加拿大北美小鼠条件突变计划 (North American Conditional Mouse Mutagenesis Project，NorCOMM，生物通编者译) 和欧洲小鼠突变计划 (European Conditional Mouse Mutagenesis Program，EUCOMM，生物通编者译) 合作，以避免重复工作。这三项计划的目标都是获得编码小鼠大约 20,000 种蛋白的突变基因。三支研究小组达成协议：及时将研究结果公开发布。（生物通雪花）



一种新的肝癌检测方法

生物通报道：肝癌是一种非常难诊断的癌症，这种癌症也是导致亚洲和非洲人死亡的一个重要原因。而且，近年来肝癌发病率在西方国家中也呈逐年上升趋势。现在，Ghent 大学 VIB 的研究人员与北京和上海的研究中心合作开放出一种能够在初期阶段检测肝癌的方法。这种检测方法只需要很少的血样就能进行。这种新的检测化验方法能够精确检测出之前无法检测出的超过 50% 的病例。

肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的一种肝癌。乙肝、丙肝病毒感染或肝硬化引发的慢性炎症最终往往导致肝癌的发生。肝硬化是一类肝病的总称，这些病的特征是肝细胞被破坏并被疤痕组织所替代。这种情况减少了健康肝脏组织的数量，并且疤痕组织的积累会干扰肝脏组织的发育和功能。肝硬化的发生有多种不同的原因，包括：饮酒过量、慢性病毒性乙肝、丙肝和丁肝感染、胆管疾病和寄生虫感染。

在我国，每年大约有 50 万患者死于肝硬化或肝癌，其中 60% 到 80% 的肝癌患者之前有肝硬化患病史。在比利时，每年肝癌新增病例为 350 个。对肝癌患者来说，移植往往是仅有的希望。而能够在早期阶段检测诊断 HCC 的方法将可能拯救无数人的生命。

目前的一些检测肿瘤生长的方法常常是根据血液中存在的特定标志物的浓度来做出判断。对于 HCC 的检测，通常只利用一种标志物 AFP。这种标志物的特异性低，常常出现假阳性结果。

刘学恩 (Xue-en Liu, 音译)、Liesbeth Desmyter 和同事在陈翠英 (Cuiying Chen, 音译) 的指导下发明出这种新的干细胞癌检测方法。这种检测是在 Roland Contreras 和 Nico Callewaert 教授之前工作的基础上开发出来的。

通过分析由乙肝病毒感染导致的肝硬化中国患者的血液，他们发现血液蛋白上的两种特殊的糖基团会根据这种疾病的发展阶段不同而变化。而且，这些数值与肿瘤的尺寸呈现相关性。这些数据的比例构建了这种新血液化验方法的基础。研究人员做出正确诊断的比率 为 70%——这个成功率与目前使用的 AFP 肿瘤标志物方法基本相同。

研究人员表示，如果将 AFP 化验方法与这种新的方法联合使用，那么肝细胞癌的诊断准确率将极大提升。这种新的方法能够诊断出利用 AFP 方法无法做出判断的肝硬化患者中的半数病例。这种化验方法将能使医生对肝硬化患者进行较高频率、非侵入性的分析，并使研究人员能够检测出处于早期阶段的肝癌，并且能够密切监控这种疾病的发展。

目前，研究人员正在检验这种方法在世纪临床实践中的诊断效果。有关干细胞癌诊断的新结构为密切研究这种疾病的发生过程提供了新动力。

肝癌是我国常见的恶性肿瘤之一，是我国位居第二的癌症“杀手”，常见于中年男性。因其恶性度高、病情进展快，病人早期一般没有什么不适，一旦出现症状就诊，往往已属中晚期。故治疗难度大、疗效差，一般发病后生存时间仅为 6 个月，人称“癌中之王”。

肝癌的症状在早期很不明显，甚至患者在患病后较长时间毫无感觉，待病情发展到一定程度才会逐步产生一些肝区疼痛、食欲下降、疲乏无力、日渐消瘦等症状，到晚期则会有黄疸、腹水、呕血、昏迷等表现。肝癌病人

的上腹部常可摸到巨大的肿块，但此时已到中晚期，甚至已向肺部等处转移。肝癌总的病程大约2年半时间，其中2年时间都是在没有症状的早期阶段，一旦出现症状就只有半年的存活时间。（生物通雪花）



HOT! Invitrogen 夏季促销开始了

点击下列图标查看相应促销信息

促销时间：2007年7月1日至 2007年8月/9月/12月30日

PCR 快速热启动酶&试剂盒

省30%

qPCR &qRT-PCR 试剂盒

省40%-60%

克隆产品

- TOPO®
- TA Cloning
- GATEWAY

省50%-66%

Stealth™ RNAi

省40%

Qubit核酸/蛋白定量仪及试剂

省20%

分子探针
(Molecular Probes)产品

省20%

GIBCO液体培养基

最低至52元
/500ml

NUPAGE蛋白电泳预制胶系统

省60-70%

RT逆转录酶试剂盒

省55%



首次发现活体细胞转录新机制

生物通报道：转录，这一将 DNA 的遗传信息通过信使 RNA 的互补合成传递下去的过程，组成了所有细胞活性的基本构成。但是有关这一过程的动力学，比如这一过程有效性有多高？能进行多久？这些问题至今我们了解得很少。来自阿尔伯特·爱因斯坦医学院 (Albert Einstein College of Medicine) 解剖学与结构生物学系，法国科学研究院 (Fonds Nationaux de la Recherche Scientifique)，以色列 Bar-Ilan 大学的研究人员利用一种先进的显微技术同步测量了转录的步骤，这一从未实现过的实验得到了令人惊讶的结果，从基础上改变了目前已知的转录过程。

这一研究成果公布在《Nature Structural & Molecular Biology》网络版上。

原文检索：Published online: 5 August 2007; | doi:10.1038/nsmb1280 In vivo dynamics of RNA polymerase II transcription [Abstract]

转录 (Transcription) 是蛋白质生物合成的第一步，也是 tRNA 和 rRNA 的合成步骤。转录中，一个基因会被读取被複製为 mRNA，就是说一特定的 DNA 片段作为模板，以 DNA 依赖的 RNA 合成酶作为催化剂的合成前体 mRNA 的过程。这一 DNA 指导的 RNA 合成作用以 DNA 为模板，在 RNA 聚合酶催化下，以四种三磷酸核苷 (NTP) 即 ATP、GTP、CTP 及 UTP 为原料，各种核苷酸之间的 3'、5' 磷酸二酯键相连进行的聚合反应。合成反应的方向为 5' → 3'。反应体系中还有 Mg²⁺、Mn²⁺

等参与，反应中不需要引物参与。碱基互补原则为 A-U、G-C，在 RNA 中 U 替代 T 与 A 配对。

RNA 聚合酶是催化转录作用的酶，原核生物与真核生物都有各自的 RNA 聚合酶，原核生物 RNA 聚合酶的结构是由五个亚基组成，为二条 α 链，一条 β 链，一条 β' 链和一条 σ 因子链， $\alpha 2 \beta \beta'$ 四个亚基组成核心酶，加上 σ 因子后成为全酶 $\alpha 2 \beta \beta' \sigma$ ；真核生物中已发现有四种 RNA 聚合酶，分别称 RNA 聚合酶 I、II、III、Mt。

其中 RNA 聚合酶 II 转录生成 hnRNA 和 mRNA，是真核生物中最活跃的 RNA 聚合酶。RNA 聚合酶 III 转录的产物都是小分子量的 RNA，tRNA 的，5SrRNA 的和 snRNA。RNA 聚合酶 I 转录产物是 45SrRNA，生成除 5SrRNA 外的各种 rRNA。

	I	II	III	Mt
定位	核仁	核质	核质	线粒体
转录产物	5.8S, 18S, 28S rRNA 前体	mRNA 前体 U1、U2、U4、U5 SnRNA 前体	tRNA 前体 5SrRNA 前体 U6SnRNA 前体	线粒体 RNAs
对利福平的敏感性	不敏感 (-) 敏感 (+)	(-) (+)	(-) (+)	(+)

这一最新研究就是围绕着 RNA 聚合酶 II 进行的，在转录过程中，DNA 附近会聚集越来越多的 RNA 聚合酶 II，然后 RNA 聚合酶 II 就会通过特异性互补作用合成 RNA。

为了观测到这一转录过程，研究人员利用活体哺乳动物细胞——每一个细胞都包含着研究人员插入到细胞染色体中的一个人工基因的 200 个拷贝。然后通过将荧光标签加在 RNA 聚合酶 II 上，研究人员就能够观测到转录过程的三个步骤了：酶分子结合绑定到 DNA 上，启动（当酶与第一个 RNA 核苷结合在一起）和延伸（RNA 分子剩余部分的延伸）。当研究人员观测 RNA 聚合酶 II 分子与 DNA 结合，并制造出新的 RNA 的时候，他们发现酶分子结合上去后会立即脱落下来。

文章作者 Robert Singer 博士表示，“令人惊讶的一项发现就是，转录过程实际上效率十分低，尤其在开始的两个步骤”，“这说明结合到基因上的聚合酶只有 1% 帮助合成 RNA，转录是一个效率低的过程。我们还不肯定这是什么原因，但是这也许是由于转录过程中需要的所有因子都要在正确的时间，正确的地点聚集在

一起，因此需要酶不断的脱落，又不断的补充上去，直到所有的元素都精确到位。”

研究人员观察到转录的结合过程持续大约 6 秒，启动则需要 54 秒，而比较而言，转录的延伸过程则需要长达 517 秒（大约 8 分钟）。研究人员认为可能的原因就是：“先锋”聚合酶有时会“停顿”一段较长的时间，延迟转录过程，就像狭长的街道上，一辆车挡住了后面所有的车。但是一旦过了这一停顿过程，延伸过程就变快了——大约每秒 70 个核苷合成，这比之前报道的要快的多。

这两个过程：停顿和延伸过程中快速的 RNA 合成，也许是调控基因表达的关键过程。Singer 博士认为，“利用这种机制，就算突然出现什么状况，你都可以应付自如”，“一旦这一停顿酶重新开始，那么就能以极高的速度合成突然急需大量特异性蛋白的 mRNA。”

参与这一研究的还包括第一作者：Xavier Darzacq（目前在法国科学基金研究会），Yaron Shav-Tal（目前在以色列 Bar-Ilan 大学），Valeria de Turris 和 Shailesh M. Shenoy。（生物通：张迪）



联系方式：

上海办事处：

上海市仙霞路 319 号远东国际广场 A 栋 2301 室

Tel: 021-62351005

Fax: 021-62350953

北京办事处：

北京市朝阳区东三环北路 2 号南银大厦 916 室

Tel: 010-64107101

Fax: 010-64107102

驻广州代表：

Tel: 13580581158

中山大学最新《PNAS》文章



生物通报道：来自中山大学北校区中山医科大学药理学与生物化学系的研究人员发现霍乱毒素能诱导大鼠 C6 和原代胚胎人类恶性胶质瘤细胞体外分化，因此认为霍乱毒素可以作为分化治疗的潜在候选物，并且蛋白激酶 A/cAMP 响应元素结合蛋白途径的激活也许是胶质瘤分化一个关键的和必需的因子。这一研究成果公布在《美国国家科学院院刊》（PNAS）杂志上。

文章的通讯作者是来自中山医科大学的颜光美 教授，其倡导的公开、公正、公平的方式进行医药采购，有利于杜绝医药采购中的不正之风，被誉为“阳光下的交易”。

原文检索：Published online before print August 6, 2007 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 10.1073/pnas.0701990104 Cholera toxin induces malignant glioma cell differentiation via the PKA/CREB pathway [\[Abstract\]](#)

神经胶质瘤简称胶质瘤（Malignant gliomas）是发生于神经外胚层的肿瘤。神经外胚层发生的肿瘤有两类，一类由间质细胞形成，称为胶质瘤；另一类由实质细胞形成，称神经元肿瘤。由于从病原学与形态学上还不能将这两类肿瘤完全区别，而起源于间质细胞的胶质瘤又比起源于实质细胞的神经元肿瘤常见得多，所以将神经元肿瘤包括有胶质瘤中，统称为胶质瘤。

胶质瘤的分类方法很多，临床工作者往往采用的是分类比较简单的 Kernohan 分类法。各型胶质瘤中，以星形细胞瘤最多，其次为胶质母细胞瘤，其后依次为髓母细胞瘤、室管膜瘤、少枝胶质瘤、松果体瘤、混合性胶质瘤、脉络丛乳头状瘤、未分类胶质瘤及神经元性肿瘤。各型胶质瘤的好发部位不同，如星形细胞瘤成人多见于大脑半球，儿童则多发在小脑；胶质母细胞瘤几乎均发生于大脑半球；髓母细

胞瘤发生于小脑蚓部；室管膜瘤多见于第 4 脑室；少枝胶质瘤大多发生于在脑半球。

胶质瘤以男性较多见，特别在多形性胶质母细胞瘤、髓母细胞瘤，男性明显多于女性。各型胶质母细胞瘤多见于中年，室管膜瘤多见于儿童及青年，髓母细胞瘤几乎都发生在儿童。胶质瘤的部位与年龄也有一定关系，如大脑星形细胞瘤和胶质母细胞瘤多见于成人，小脑胶质瘤（星形细胞瘤、髓母细胞瘤、室管膜瘤）多见于儿童。

胶质瘤大多缓慢发病，自出现症状至就诊时间一般为数周至数月，少数可达数年。恶性程度高的和后颅窝肿瘤病史较短，较良性的或位于静区的肿瘤病史较长。肿瘤若有出血或囊变，症状会突然加重，甚至有类似脑血管病的发病过程。胶质瘤的临床症状可分两方面，一是颅内压增高症状，如头痛、呕吐、视力减退、复视、精神症状等；另一是肿瘤压迫、浸润、破坏脑组织所产生的局灶症状，早期可表现为刺激症状如局限性癫痫，后期表现为神经功能缺失症状如瘫痪。

胶质瘤的诊断，根据其生物学特征、年龄、性别、好发部位及临床过程进行分析，在病史及体征基础上，采用电生理、超声波、放射性核素、放射学及核磁共振等辅助检查，定位正确率几乎是 100%，定性诊断正确率可在 90% 以上。胶质瘤的治疗，以手术治疗为主，由于

肿瘤呈浸润性生长，与脑组织无明确分界，难以彻底切除，术后进行放射治疗、化学治疗、免疫治疗极为必要。手术治疗的原则是在保存神经功能的前提下尽可能切除肿瘤。早期肿瘤较小又位于适当部位者可争取全部切除。位于额叶或颞叶的肿瘤，可作脑叶切除。当额叶或颞叶肿瘤范围较广不能全部切除时，可同时切除额极或颞极作内减压术。肿瘤位于运动、言语区而无明显偏瘫、失语者，宜注意保存神经功能，适当切除肿瘤，避免发生严重后遗症。脑室肿瘤宜从非功能区切开脑组织进入脑室，尽可能切除肿瘤，解除脑梗阻。位于丘脑、脑干的胶质瘤，除小的结节性或囊性者可作切除外，一般作分流术，缓解增高的颅内压后，进行放射治疗等综合治疗。放射治疗宜在手术后一般状况恢复后尽早进行。

胶质瘤的化学治疗倾向于联合用药，根据细胞动力学和药物对细胞周期的特异性，用几种药物以提高疗效。如亚硝基脲类药物与VCR、PCB联合应用，或与VM26、ADM、甲氨蝶呤（MTX）、博来霉素（BLM）等联合应用。为提高局部药物浓度、降低全身毒性，亦可采用特殊给药途径，如通过Ommaya储液器，局部注入ADM、MTX。通过选择性导管从供应肿瘤血液的动脉注入肿瘤药物。胶质瘤的免疫治疗，包括主动免疫接种肿瘤疫苗、淋巴结内注入免疫核糖核酸及应用免疫调节剂如左旋咪唑、PSK、PSP等也都在临床应用，可收到减轻放疗化疗反应，增强免疫力的作用。

但是目前化学预防策略

（chemoprevention strategies）了解和研究的甚少，在这篇文章中，研究人员围绕霍乱毒素（cholera toxin，即霍乱菌产生的外毒素，已经证明它是能引起腹泻的毒素，也称为霍乱肠毒素（cholera enterotoxin）或霍乱原

（choleragen）），这种毒素的作用机理是由于霍乱毒素能使腺苷酸环化酶的调控分子（G蛋白）ADP核糖基化，从而失掉三磷酸鸟（嘌呤核）苷酶的活性，使腺苷酸环化酶活化造成。随着腺苷酸环化酶之活化，细胞内的环状AMP的量增加，成为向肠道内渗出大量水分（即下泻）之原因。B亚单位与肠道上皮的靶细胞膜上的CM1神经节苷脂（Ganglioside）结合。

他们发现霍乱毒素能诱导大鼠C6和原代胚胎人类恶性胶质瘤细胞体外分化，这种分化具有典型性形态学上的变化，增加了胶质纤维酸性蛋白（glial fibrillary acid protein）的表达，减少了Ki-67的表达，抑制细胞增殖，以及将细胞积累在细胞周期的G1期。

而且霍乱毒素也可以引发G1细胞周期调控蛋白cyclin D1和Cdk2极大的减少，细胞周期抑制蛋白p21^{Cip1}和p27^{Kip1}的过量表达。进一步RNA干扰实验妨碍吸纳cAMP依赖性蛋白激酶A活性的终止，或者cAMP响应元素结合蛋白的沉默都会导致分化被抑制。

这些发现说明霍乱毒素可以作为分化治疗的潜在候选物，并且蛋白激酶A/cAMP响应元素结合蛋白途径的激活也许是胶质瘤分化一个关键的和必需的因子。（生物通：张迪）

附：颜光美 教授

男，汉族，1957年4月出生，湖南娄底人，中共党员，博士研究生学历，药理学教授，博士生导师，广东省政协第八届委员会委员。1974年高中毕业回乡务农，1976年就读湖南医学院医疗系，1979年毕业分配到湖南吉首大学医学系任助教。1980年到湖南医学院药理高师班进修一年半。1982年考入中山医学院就读药理学硕士研究生，1985年毕业留校，在基础学院药理学教研室工作并继续在职攻读博士研究生，1989

年获医学博士学位。1991年被国家教育委员会和国务院学位委员会评为“做出突出贡献的中国博士学位获得者”。1987年晋升讲师，1989年晋升副教授，1995年晋升教授，1997年任博士生导师。1991年6月赴美国，先后在美国国立卫生研究院精神卫生研究所、印第安那大学药理与毒理系进行博士后学习和客座研究工作。1996年2月回国，同年6月任中山医科大学副校长、校党委常委。

颜光美：《二十世纪湖南人物》

中山医科大学副校长。

湖南省娄底市人，1957年生于娄底一个农民家庭。高中毕业后回乡参加农业生产，当过农科站站长、学校代课教师。1976年被推荐到湖南医学院读书。1979年毕业后，自愿到湘西吉首大学任教。他认为“在艰难的环境里，人可以奋发向上”。1982年考取中山医科大学研究生。1989年获得博士学位。1991年获国际福格地奖学金，到美国国立卫生研究院做博士后研究。在美国5年，他的知识更加广博、专深和丰富，其事业和家庭都步入佳境。有美国名师指点，有妻子、孩子相伴，别人以为他不会回国了。当母校中山医科大学校长到美国盛情邀请他回国回校工作时，他动心了，领情了，决心把国外先进的科学技术和管理经验带回，服务于母校，还主动联络了在美国、加拿大、英国和澳大利亚留学的12位博士回国。他成为1996年全国新闻人物。

回母校后不到一年，任中山医科大学副校长，主管学校的教学、科研和部分外事工作。他克服管理上的种种困难，努力创新管理制度。1998年又兼任中山医科大学附属三院院

长、党委书记。他不畏艰难，力图建设一座新型医院：首先要有社会责任感和良好的声誉，充分体现人道主义精神；二要业务素质高，在广东乃至全国都能数得着；三要人际关系宽松和谐，有利于人才的成长。作为院长，他要求自己具备人道主义的价值观，对生命的尊重，对人的负责。他在医院公共事务部提出一个响亮的口号：“最宝贵的是生命，最重要的是健康。”他规定院里的两部轿车用来接送老教授、老专家上下班；对每位博士导师每月补助1000元津贴；大幅度提高门诊量，增加效益。并深化改革，解决医疗设备、药品采购上的不正之风。他说：“在三院，我不会利用权力为自己去谋取私利，但我也不能容忍任何人利用权力去谋取私利。”1999年4月7日，他按国际惯例进行医疗设备采购的公开招标，由9名评标专家组独立进行评估，同时请纪检、监察、新闻单位全程现场监督。此举十分成功，比常规采购节约资金20%以上，并以公开、公正、公平的方式进行，有利于杜绝医药采购中的不正之风，被誉为“阳光下的交易”。

这种改革触犯某些人既得利益，引起轩然大波。1999年4月15日，上级在三院召开全体职工大会，免除他的附属三院院长、党委书记职务。其理由是：公开招标在医疗界造成不良影响，而且没有请示上级。在大会上，他的讲话6次被职工的掌声所打断。会后又有上百名教授和职工联名写信为他申辩。他尽管遭受挫折，但坚信自己的所作所为符合国家的利益，也顺应民众的要求，一不后悔，二不胆怯，三充满信心。1999年7月23日《南方周末》报在人物栏目发表了长篇报道和短评，称他是一位新理想主义者。



上海生科院教授《细胞》 子刊解析神经干细胞研究

生物通报道：来自中科院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所，干细胞生物重点实验室（Key Laboratory of Stem Cell Biology），日本福井大学（Fukui University）医学院，美国 Sloan-Kettering 癌症研究中心（Memorial Sloan-Kettering Cancer Center，MSKCC）等处的研究人员发现在神经发育早期，bHLH 家族负性转录因子 Id 蛋白可以通过维持同家族中另一个转录因子 Hes1 基因的表达，抑制神经干细胞提前分化为神经元，从而使胚胎神经干细胞的数量维持在适当的水平，这揭示了神经发育早期神经干细胞维持的新机制。这一研究成果公布在《Developmental Cell》杂志上。

文章的通讯作者是来自中国科学院上海生命科学院生物化学与细胞生物学研究所副所长 景乃禾教授，第一作者是白戈博士。

原文检索：Developmental Cell, Vol 13, 283-297, 07 August 2007 Id Sustains Hes1 Expression to Inhibit Precocious Neurogenesis by Releasing Negative Autoregulation of Hes1 [[Abstract](#)]

神经干细胞是一类存在于胚胎和成年神经系统中的干细胞，可分化为多种类型的神经元和神经胶质细胞，从而构成整个中枢神经系统。科学界以往的研究表明，神经干细胞一旦提前分化，会导致神经系统发育缺陷，从而严重影响整个中枢神经系统的正常发育。

科学界以往的研究表明，神经干细胞的维持对于神经发育的正常进行至关重要。神经干细胞提前分化会导致神经元数量下降以及神经胶质细胞类型的缺失，造成神经系统发育缺陷，从而严重影响整个中枢神经系统的正常发育。现代医学研究还表明，利用神经干细胞可以分化为多种神经细胞的特性，通过在病人体内进行神经干细胞移植具有治疗神经退行性疾病等多种神经系统疾病的潜力。此外，神经干细胞的非正常增殖还与脑部肿瘤的形成具有密切关系。

现代医学研究还表明神经干细胞可分化为多种神经细胞的神经干细胞，若能进行人工移植，有治疗老年痴呆、神经性损伤等多种神经系统疾病的潜力。此外，成年脑内神经干细胞的非正常增殖，与脑部肿瘤的形成脱不了干系。这种不受控的乱增殖，和胚胎发育早期神经干细胞不受控的提前分化，机理颇为相似。上海科学家的最新研究成果，将为这些疾病的预防和干细胞治疗提供重要的理论基础。

文章中，研究人员在对鸡和小鼠胚胎神经发育过程的研究中发现，在神经干细胞比较集中的早期神经管中，Id 和 Hes1 基因都具有较高的表达。过量表达 Id 基因可以上调 Hes1 基因的表达，并抑制神经元分化；抑制 Id 基因会导致 Hes1 基因的表达下调，同时引起神经干细胞提前分化为神经元。进一步的机制研究发现，Id 蛋白是通过与 Hes1 蛋白相互结合，并解除 Hes1 基因的自反馈抑制来维持 Hes1 基因表达的。上述研究结果揭示了神经发育早期神经干细胞维持的新机制，不但有助于了解相关神经系统发育缺陷的发病机理，还将为预防和治疗脑部肿瘤以及为神经损伤后的干细胞治疗提供重要的理论基础。

附：景乃禾

理学博士，研究员，博士生导师。

中国科学院上海生命科学院生物化学与细胞
生物学研究所副所长，研究组长。

上海市岳阳路 320 号， 邮编 200031

Tel: 021-5492-1381

Fax: 021-5492-1011

E-mail: njing@sibs.ac.cn

1978-1982 年 南京大学化学系，获理学学士
学位。

1982-1988 年 中科院上海生物化学研究所研
究生，获理学博士学位。

1989—1991 年 日本理化研究所博士后研
究。

1992—1993 年 以访问学者身份赴日本理化
学研究所进行合作研究。

1995 年 以访问学者身份在法国 Strasbourg
的遗传与分子细胞生物学研究所(IGBMC)进
行合作研究。

1996—1997 年 以访问学者身份在德国
Geottingen 之马普生物物理化学研究所
(Max-Planck Institute for Biophysical
Chemistry)进行合作研究。

2000 年 以访问教授身份赴日本熊本大学进
行合作研究。

2003 年 以访问教授身份赴日本大阪大学进
行合作研究。

中国生物化学与分子生物学学会副理事

长兼秘书长；中国细胞生物学学会理事；上海
生物化学与分子生物学学会理事长；中国神经
科学学会神经化学专业委员会主任委员。《生
理学报》、《J. Mol. Cell Biol.》编委和
《Neuroscience Bulletin》常务编委。

研究方向

大脑发育与脑功能的分子和细胞机制。大
脑是生物体内最复杂的器官之一，而这一复杂
系统是由胚胎发育早期的神经干细胞发育分
化而来的。因此，研究神经干细胞发生和神经
元发育分化的分子机制，将有助于加深人们对
大脑是如何形成的这一问题的认识。同时，在
分子水平上研究脑重要功能相关基因，将有助
于加深人们对大脑是如何工作的这一问题的
认识。

目前从事的主要研究工作有：

1. 以胚胎干细胞 (ES) 和多潜能 P19 细胞的
体外神经分化为模型，研究多潜能干细胞神经
命运决定过程中 FGF、BMP 和 WNT 信号通
路间的调控网络。
2. 以鸡胚神经发育为模型，研究在神经发生
过程中神经元和胶质细胞命运决定的分子机
制。
3. 小鼠巢蛋白基因表达调控的分子机制。
4. 脑功能及神经系统疾病相关基因的筛选、
鉴定及功能研究。

(注:上接第 34 页)

化学博士，专长为生物有机及合成有机化
学，1994 年当选“中央研究院院士”，并曾

当选美国艺术与科学院院士及美国国家
科学院院士，在专业领域颇具声誉。(生物通
雪花)





翁启惠研究组研发全球首例乳腺癌疫苗

生物通综合：中新网消息，由台“中研院长”翁启惠研究团队研发、全球第一个具治疗效果的“乳腺癌疫苗”，先前实验证明，对末期患者治疗有效性达 80%。美食品药物管理局(FDA)与台“卫生署”已同意近期同步进行第二、第三阶段人体试验，最快三年后上市。

据台湾《中国时报》报道，所谓“治疗有效性”的定义，翁启惠表示，乳腺癌疫苗第一阶段人体实验达到八成以上的有效性，即十位受测乳腺癌患者施打该疫苗后，可有效杀死癌细胞，且追踪五年后，乳腺癌复发人数只有两位。

翁启惠 7 日公布此项研究成果说，这是世界上第一个以“合成多醣体”当作病原的癌症疫苗，也是第一个治疗乳腺癌的疫苗。未来如能顺利制成疫苗上市，除可造福患者，获利将超过 200 亿美金。

翁启惠表示，80%的乳腺癌患者乳腺癌细胞上会表现出一种由“六个单醣”组合的“多醣体”。锁定此“病原特征”后，他合成出此一多醣体当作抗原，研发出全球第一个由多醣体制成的乳癌疫苗。此疫苗能强化乳腺癌患者的免疫能力，患者施打后，疫苗在体内启动“自然杀手细胞”，并与乳腺癌细胞结合、标示位置。杀手细胞会按照标示，“找到”乳癌细胞并一举歼灭。

翁启惠表示，研究团队进行乳腺癌疫苗研究，2000 年进入动物试验阶段，乳癌细胞歼灭率达 90%以上；2002 年进入第一期人体临床试验，以 10 至 12 位乳癌四期病患为样本，消灭癌细胞率也达到 80%，并证实乳腺癌疫苗的安全性没有问题。

参与研究的中研院基因体中心副主任陈铃津表示，中研院研发的乳腺癌疫苗是“治疗

性疫苗”，与“预防性疫苗”不同。“预防性疫苗”以病毒当抗原，病毒进入人体前即形成抗体；“治疗性疫苗”则在强化人体免疫力，让体内免疫系统摧毁癌细胞。

调查数据显示，全球每年 120 万妇女罹患乳腺癌，且有 50 万死于该病。在西欧、北美等发达国家，乳腺癌的发病率占女性恶性肿瘤首位。据 1992-1996 年统计，美国每 10 万人中就有 110.6 个人患有乳癌。而处于相低发区的中国，发病率更是呈逐年上升的趋势。

此前，中研院翁启惠研究团队还发现了 SARS 病毒感染新型干细胞。据称，该项发现有助未来治疗因 SARS 等引起的肺衰竭患者。

翁启惠在报告时特别提到，台“中研院”最新发表的新型肺部干细胞，是 SARS 病毒感染对象，未来可针对肺部衰竭的疾病治疗，引领出更清楚可行的细胞治疗策略，这项研究成果也已发表于《美国国家科学院期刊》，且已申请专利中。

此外，药物不良反应的检测也是台“中研院”重要发现。翁启惠说，根据这项成果，日后病人只要在用药前先筛检，或是发生过敏症状时，即可以给予抗过敏伤害蛋白质抗体，这项成果已和厂商签订授权合作，成立新公司进行商业化。

翁启惠，1948 年 8 月 3 日生，现年 58 岁，台湾大学学士、硕士，美国麻省理工学院
(注：下接 33 页)



百人计划人才《细胞》子刊 发现细胞因子新功能

生物通报道：来自中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所分子生物学重点实验室（State Key Laboratory of Molecular Biology），美国德州大学西南医药中心的研究人员发现 Ufd1 是 gp78 的一个共因子，这揭示了 ERAB 过程泛素反应中 Ufd1 的一个未知功能，也说明了 Ufd1 在胆固醇代谢过程中的关键作用。这一研究成果公布在《Cell Metabolism》杂志上。

文章的通讯作者是来自上海生命科学研究院李伯良教授，和宋保亮博士，前者的 研究方向为胆固醇代谢平衡的基因表达调控。目前针对胆固醇代谢平衡关键酶—酰基辅酶 A：胆固醇酰基转移酶(ACAT, acyl coenzyme A:cholesterol acyltransferase)基因，开展组织结构、表达调控（包括转录、剪接、翻译水平）和功能模式等研究，进而探索与胆固醇代谢平衡、动脉粥样硬化（AS）早期病变、老年痴呆症（AD）、高胆固醇血症（HC）等的关系。

后者为“百人计划”引进人才，研究方向为 胆固醇代谢调控。

原文检索：Cell Metabolism, Vol 6, 115-128, 08 August 2007 Ufd1 Is a Cofactor of gp78 and Plays a Key Role in Cholesterol Metabolism by Regulating the Stability of HMG-CoA Reductase [[Abstract](#)]

真核细胞主要有两种蛋白降解途径：一种是溶酶体途径，主要降解经胞吞进入细胞中的胞外蛋白质；另一种是非溶酶体途径，主要经细胞颗粒中的蛋白酶体降解泛素化的细胞内蛋白质。泛素 2 蛋白酶体途径 (ubiquitin-proteasome pathway ,UPP) 不仅是一种破坏陈旧或损坏蛋白质的重要机制之一，而且还参与调节细胞周期进程、基因转录调节、受体胞吞、抗原呈递、细胞增生与分化

以及信号转导等各种细胞生理过程。UPP 水解底物的主要步骤为：识别被降解的靶蛋白；多个泛素分子共价结合到蛋白质底物上形成多聚泛素链；通过 26S 蛋白酶体复合物降解靶蛋白，同时释放游离的、可重新利用的泛素分子。

2004 年诺贝尔化学奖的获得者以色列科学家阿夫拉穆-赫什科博士就以泛素介导的蛋白质降解和泛素在细胞周期调控中的作用获得了此次诺贝尔奖。在细胞中，除了那些构成细胞结构和担负着细胞基本功能的蛋白质外，大部分蛋白质都是细胞中的匆匆过客，对于这些短期存在的蛋白质，一种泛素（一种高度保守的小蛋白质，在绝大多数真核生物细胞中都存在）做为中间体可以根据细胞执行的功能和细胞的需要对这些短期蛋白质进行选择性的降解。在这个过程中，对那些需要进行降解的蛋白质，泛素会主动与其结合。蛋白质一旦与泛素联姻，就意味着它将开始死亡之旅。

在这个过程中三种酶(可以促进生物化学反应的一类小型蛋白质)将依次发挥作用：酶 E1 由泛素激活后，酶 E2 就做为载体背负着泛素去寻找那个注定要踏上死亡之旅的蛋白质，而酶 E3 则主要负责将泛素连接到蛋白质上。在这个过程中，酶 E3 所发挥的作用最大。细胞分裂涉及到组织和器官的生长和内部新老细胞的更替，涉及到组织器官如何维持其原

有的形态和功能，对癌症控制、器官组织的修复以及疾病的治疗均有十分重要的意义。

膜锚定泛素连接酶 gp78 能促进错误折叠内质网 (endoplasmic reticulum, ER) 蛋白，和 HMG-CoA 还原酶 (固醇调控) 的降解。之前的研究发现泛素融合降解基因 (ufd1, 由 UFD1 基因编码, 是泛素依赖性降解系统或泛素融合降解途径中的一个关键因子) 在内质网相关蛋白降解 (ER-associated protein degradation, 或 ER-associated degradation, ERAD, 真核细胞蛋白质质量控制的重要途径) 与 Npl4 和 VCP 相互作用中扮演着重要的作用：VCP-Ufd1-Npl4 复合物可以识别多泛素链 (polyubiquitin chains)，并将泛素蛋白传递到蛋白酶上。

在这篇文章中，研究人员发现 Ufd1 直接与 gp78 相互作用，而且是 gp78 的一个共因子。Ufd1 可以增强 gp78 的 E3 活性，加速泛素化和还原酶的降解，并最终促进低密度脂蛋白的受体介导吸收。同时研究人员证明 Ufd1 的单泛素化位点对于 gp78 的活性增强是必需，而其多泛素化位点则对于 ERAB 的泛素化后步骤也是关键的一个元素。

因此这一研究说明 Ufd1 是 gp78 的一个共因子，这揭示了 ERAB 过程中泛素反应，Ufd1 的一个未知功能，也说明了 Ufd1 在胆固醇代谢过程中的关键作用。（生物通：张迪）

附：李伯良

研究员，中国生物化学与分子生物学会基因专业委员会主任 Email:blli@sibs.ac.cn

个人简介

1994 年被批准为博士生导师，1993 年特聘为研究员，1989 年被破格晋升为副研究员，1983 年在中国科学院上海生物化学研究所研究生毕业并获硕士学位，1979 年毕业于北京

大学生物系生物化学专业。曾在美国 Dartmouth 医学院先 1 年、后多次短期合作研究 (Visiting Scientist, 1993-1994、1998、2000、2002) 和美国 New Jersey-UMDNJ 从事研究 2 年 (Research Associate, 1986-1988)。

2000 年起在中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所从事研究，任所长 (2000-2003)、研究组长、博士生导师、研究员、学术与学位委员会委员。曾在中科院上海生物化学研究所从事研究 (1983-2000)，任所长 (1997-2000)、常务副所长 (1995-1997，法人代表主持工作)、学术委员会主任 (1995-2000)、研究组长 (1991-2000)、博士生导师 (1994-2000)、研究员 (1993-2000)、学术与学位委员会委员 (1992-2000)、副研究员 (1989-1993)。

2005 年起任中国生物化学与分子生物学会基因专业委员会主任，1997 年起任中国生物工程学会第 2 届理事、第 3 届常务理事、第 4 届理事；1998 年起被聘任中国医学科学院医学生物学研究所客座教授，1994 年起被聘任浙江大学兼职教授；2004 年起任《中国生物化学与分子生物学报》编委，2001 年起任《科学通报》特邀编委，1998 年起任《生命的化学》编委、常务编委、副主编，1996 起任《生物化学与生物物理学报》常务编委、副主编、主编。曾任：《Cell Research》编委 (2002-2006)，上海市生物工程学会第 3 届常务理事 (2002-2006)、第 2 届理事 (1999-2002)，中国科学院上海生命科学研究院党委书记 (2002-2004) 和学术委员会常务委员 (2000-2006)；中国生物化学与分子生物学会第 8 届副理事长兼秘书长 (2001-2005)、第 7 届副理事长 (1997-2001)，中国科学院生命科学/微观

生物学专家委员会（1997-2003）、生物技术专家委员会（1996-2003）和国际合作专家委员会（1996-2003）的委员，上海交通大学的兼职教授（1997-2000），上海市生物化学与分子生物学会的理事（1994-2003）。

一直从事生物化学、分子生物学、分子遗传学等方面工作。至今，发表研究论文近 80 篇、综述文章 10 多篇，发明专利已授权 7 项、申请中 2 项，获国家科技进步二等奖 1 项和中国科学院及省部级科技进步一等奖 2 项、二等奖 3 项、三等奖 3 项；获得中国科学院“百人计划”管理 5 年基金（1999）、国家杰出青年科学基金的延续基金（1997）、上海市优秀学科带头人基金（1996）、首届国家杰出青年科学基金（1994）、国家基金委中青年人才专项基金（1993）；受到中国科学院先进领导班子（上海生物化学研究所所长）表彰（2000）、中国科学院有突出贡献的中青年科学家表彰（1992）、国家“863”研究突出贡献表彰（1991）、国家“七五”攻关研究重要贡献表彰（1991）；获得上海市优秀专业技术人才称号（2004）、上海市科技精英提名奖（1998）、香港“求是科技基金会”杰出青年学者奖（1995）、国务院颁发政府特殊津贴（1994）；获得中国科学院优秀博士生导师奖（1999）、中国科学院上海分院优秀博士生导师奖（1997）。

研究工作 研究方向为胆固醇代谢平衡的基因表达调控。目前针对胆固醇代谢平衡关键酶—酰基辅酶 A:胆固醇酰基转移酶（ACAT, acyl coenzyme A:cholesterol acyltransferase）基因，开展组织结构、表达调控（包括转录、剪接、翻译水平）和功能模式等研究，进而探索与胆固醇代谢平衡、动脉粥样硬化（AS）早期病变、老年痴呆症（AD）、高胆固醇血症（HC）等的关系。

研究涉及的主要内容：

1. ACAT1 基因表达的新型反式剪接及其与胆固醇代谢平衡、AS、AD 等的关系；
2. ACAT2 基因在肝肠组织细胞的特异表达调控及其与 HC 等的关系；
3. ACAT 基因在单核/巨噬细胞中的表达调控及其对胆固醇代谢的生理与病理包括 AS 早期病变的机理；
4. ACAT 基因表达调控与细胞膜胆固醇功能的关系及其对细胞生长、分化、凋亡、癌变等活动的影响；
5. ACAT 表达的相关功能基因、对应信号转导与胆固醇代谢平衡的网络调控；
6. ACAT 的药靶系统及其对 AS、AD、HC 等重要疾病治疗新药筛选的应用。

ACAT 定位于细胞的内质网膜，是含量极低的膜蛋白，是细胞内唯一催化游离胆固醇与脂肪酸生成胆固醇酯的酶（多聚体变构酶），是胆固醇及其酯类代谢平衡的关键酶之一。

ACAT 在胆固醇的吸收、转运、细胞膜功能作用等生理过程发挥极其重要作用。病理上，它在巨噬细胞中大量地合成胆固醇酯，形成泡沫细胞，即 AS 早期病变；它还影响神经细胞膜内的胆固醇量，直接调节产生 A-beta，从而与 AD 相关；它在肝肠细胞中的活性变化，影响胆固醇酯的合成与血液转运，而与 HC 相关。因此，它是重要的药物靶蛋白。但由于它是含量极低的内质网膜蛋白，国际上至今未能纯化其天然型酶蛋白。所以，在基因水平开展的工作，对深入研究 ACAT 功能机制、胆固醇代谢平衡及其与相关疾病关系，显得极为重要，是目前唯一切实可行的途径。文献报道的 ACAT 家族基因包括 ACAT1、ACAT2 基因。人 ACAT1 基因在各种组织细胞中广泛表达，而人 ACAT2 基因主要在肝肠细胞特异表达。本实验室与长期从事 ACAT 的酶学作用机制、

结构功能研究并最先克隆报道人 ACAT cDNA 基因的美国 Dartmouth 医学院生物化学系主任 TY Chang 教授实验室进行优势互补合作, 对 ACAT 基因的组织结构、表达调控等进行系统的研究。在首先报道人 ACAT1 和 ACAT2 基因组织结构及其启动子序列并发现人 ACAT1 mRNA 序列来自两条不同的染色体、干扰素-gamma 与全反式视黄酸协同调控人 ACAT1 基因 P1 启动子的转录活性、人 ACAT2 基因启动子具有细胞特异和分化依赖的转录活性等研究积累基础上, 深入进行 ACAT 基因相关的上述几方面研究探索, 旨在建立相应前沿性研究体系的同时, 不断揭示 ACAT 基因表达调控的功能作用及其分子机制, 促进阐明 ACAT 基因的表达调控在胆固醇及其酯类代谢平衡过程的生理功能、病理变化中的作用机理及与重要疾病的关系, 为相关疾病的预防、诊治和药物等研究提供重要的基础。

正在主持 (3 项) 、合作负责 (2 项) 的国家 973、863、基金委重大及中国科学院、上海市研究基金共 5 项。已完成的国家、省部级研究 28 项 (主持 13 项、合作负责 7 项、参加 8 项)。对科研工作要求: 尽兴选择、反复论证有基础积累的前沿性课题, 精细掌握、即时创造课题研究所需的技术方法, 纵深拓宽、交叉运用所学知识于研究实验分析,

罗氏应用科学部 蛋白质组学畅销产品特惠活动

Buy 2 Get 3

Valid until August 15, 2007

Order Today!

同一产品 • 同一包装规格 • 买2送1

现在就联系我们吧!自 2007 年 7 月 1 日起至 2007 年 8 月 15 日,罗氏应用科学部蛋白表达分析系列部分产品 进行买2送1的特惠活动。以更加优惠的价格体验罗氏产品带给您的研究工作带来的简便、高效和成功, 机会难得, 千万不要错过!



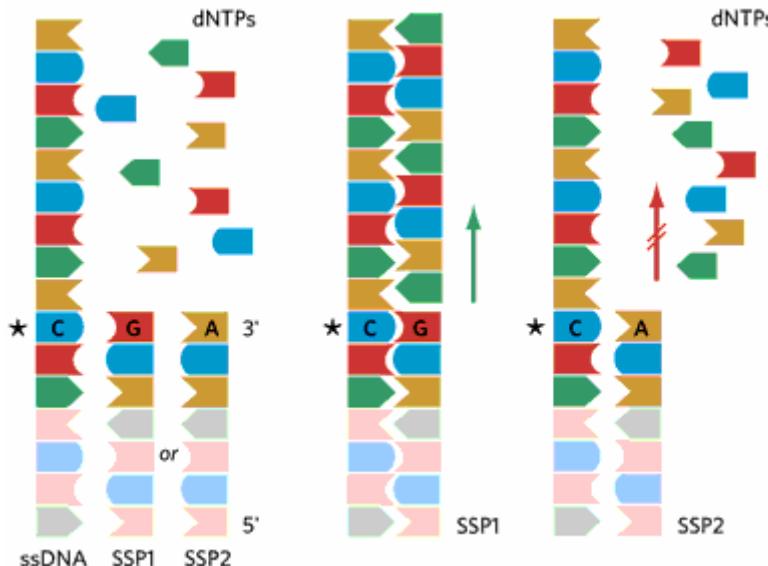
PCR 基因分型技术指南

PCR 技术自诞生之后就给分子生物学研究带来了惊喜连连，早期单纯的 DNA 扩增，到目前基因转录检测，转基因生物检测，肿瘤耐药性基因表达检测等多方面发挥着重要的作用。

基因分型 (genotyping)，或称为基因型分析在群体遗传学 (如不同人种的特征) 和法医学 (如亲子鉴定) 方面有广泛的应用，早期利用 Southern blots 进行基因分析，但是这种方法耗时长，操作繁琐，让许多研究人员尝尽了苦头。随着定量 PCR 的出现，相关技术的革新，PCR 已使这些基因组学和转录组学发生了翻天覆地的变化，甚至随着免疫 PCR 的普及开始进军蛋白组学。

然而要利用 PCR 进行基因分型也不件容易的事，目前有许多以 RNA 为基础的基因分型技术，有些只是名称不同，简单到只是跑块胶，有些很复杂，需要检测单核苷酸多态性的累积。选择哪种方法当然依据需要而定，以下来自 PCR 基因分型专家的意见，对某些以 PCR 为基础的基因分型分析的优点和缺点做了一个简要总结，希望能给予相关领域研究人员在如何选择方法上以提示。

The Simple Acronyms



Allele-specific primer extension (ASPE)

一般情况下，特异性突变通过 SSP 的突变特异的引物能作为阳性或者阴性检测出来，或者通过将标记过的扩增子(amplicon)绑定在位

最基本的设计是序列特异引物 (sequence-specific primers , SSP) ，等位基因特异性引物延伸 (allele specific primer extension , ASPE) ，序列特异性寡核苷酸探针 (sequence-specific oligonucleotide probes, SSOP)，或等位基因特异性寡核苷酸 (allele-specific oligonucleotides , ASO)，限制性片段长度多态性分析(restriction fragment length polymorphism, RFLP)。进行低通量研究时，这些分析不需要特异仪器。

于杂交斑点上的变异体专一探针，检测突变 (SSOP)；RFLP 中，用限制性内源性降解 PCR 产物，通过观察切开或者未切开片段，得

到结果。尽管突变的位点对 SSP 设计引物有限制, 但 SSOP 和 RFLP 为引物设计带来了很大弹性, 引物可以在任何地点, 尝到甚至可以跨越突变。

而 PCR-RFLP(又称扩增片段长度多态性, **amplified fragment length polymorphism, AFLP**)能得到明确无误的结果, 鉴别突变有合适和便宜的核酸内切酶。加入标记过的引物, 大多数遗传分析仪可推算片段长度。问题在于它需要 PCR 后期操作, 这意味着污染的风险, 而且也不适合高通量研究。

对于大项目, 以上所有的三种方法都很昂贵和耗时, 但因为大多数自动化方法要求扩增小片段, 基本的设计是分析大片段的唯一选择。而且有旁向性同源基因(**paralogs**)的基因需要具有位点特异性的引物。假如目的突变和位点特异的引物相距较远, 这些基本方法是必需的。

熔解曲线法 (Melting Curves)

DNA 的碱基组成影响变性温度。利用特异荧光染料或者标记探针的高分辨率熔解点分析能够在 PCR (标准设备上) 进行 5–10 分钟后鉴别一个 PNA 片段上的寡核苷酸突变, 所需的专用设备包括 Idaho Technology 公司的 LightScanner (或 HR-1) 和罗氏的 LightTyper, 但某些实时 PCR 平台也有这种功能。

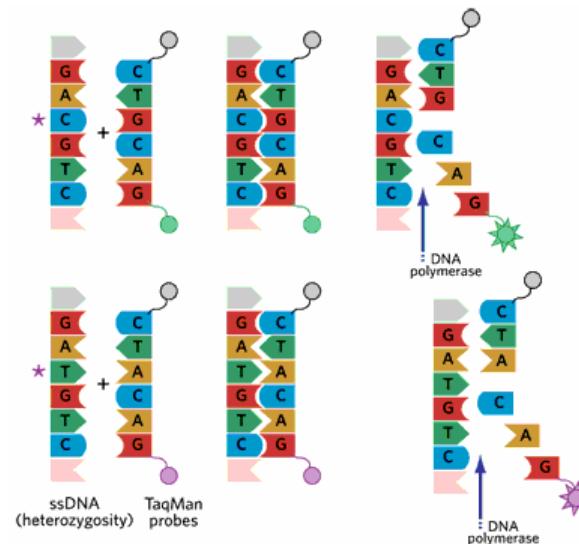
该方法还可用于检测新突变和未知突变, 专用设备能够在短时间内分析 384 孔平板, 使高通量分析成为可能。至少可以区分一个片段的 4 种熔解温度, 用六种颜色标记探针。因此, 至少一次能够探测 24 个靶标, 因此这种方法很便宜, 而且对引物设计没有要求, 系统始终处于封闭的管中, 降低了污染风险。一些变异在低分辨率平台中会丢失, 但这种方法有望成为最流行的筛选和检测突变的方法。

荧光检测 (Going Fluorescent)

荧光/福斯特共振能转移

(**Fluorescence-/forster resonance energy transfer, FRET**) 也被用于基因分型研究中, 目前主要使用的方法是 **TaqMan**——这一技术由 ABI 发展而来, 其它的方法也包括罗氏的 **LightCycler** 实时 PCR 仪中进行的杂交探针方法。这种 5' 荧光标记分析灵敏度和特异性都很高, 但应用性不是很广。在 **ABI 7900HT** 或 **Roche LC480** 上能在 384 孔板上用不到 40 分钟的时间完成定量 PCR 反应, 而且由于其均衡性, 十分合适于中量的分析研究。

ABI 已经发展了许多针对不同变异的 **Taqman** 试剂, 然而虽然仪器的成本不断下降, 这些分析试剂的价格仍然很高: 一个小型的或中型的项目最少需要 1 美元/genotype。



(FRET-based TaqMan assay for allelic discrimination)

焦磷酸测序 (Pyrosequencing)

多种引物延伸和以连接为基础的化学法已经整合入久经考验的“**allelic discrimination**”的高通量分析法中。焦磷酸测序法

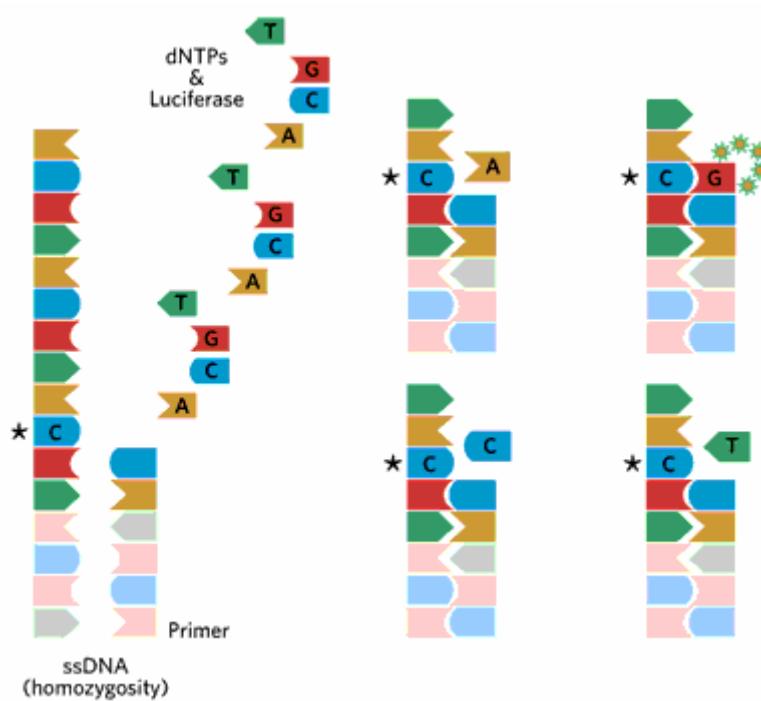
(**Pyrosequencing**)是一种新的实时 DNA 测序技术, 以单碱基延伸反应(**single base extension**, **SBE**)为基础, 在 DNA 聚合酶、三磷酸腺苷硫酸化酶、荧光素酶 (**luciferase**) 和三磷酸腺苷双磷酸酶 4 种酶的协同作用下, 使引物延伸聚合脱氧核糖核酸 (**dNTP**) 释放焦磷酸盐 (**PPi**)、**PPi** 转换三磷酸腺苷 (**ATP**)、**ATP** 产生荧光信号与 **dNTP** 和 **ATP** 的降解等化学反应偶联起来。**dNTP** 以预定顺序被依次加入反应混合物中, 如果序列上又添加了一个碱基, 会有荧光出现。焦磷酸测序法能够一次检测 384 个样本, 在所有引物延伸反应中, 对引物设计有限制。

焦磷酸测序最适合于空间位置较近的多个突变的基因分型, 但不适合检测单个突变, 部份原因是实验程序稍微复杂, 而且会增加在酶和试剂上的开销。然而, 对拥有自动 **genotype-calling** 能力的小或者中等大小的项目来说是一种恰当的基因分型和微型测序法。

悬浮点阵技术 (**suspension array technology**)

一项液相基因型分析方法和荧光标记的微珠捕获过程相结合的新技术。在单碱基延伸反应中, 5' 端有特定标记且 3' 端有靶特异性的寡核苷酸, 与 PCR 扩增的基因组 DNA 靶标杂交, 然后被 DNA 聚合酶延伸。核酸探针经过生物素标记, 微珠经过抗生素 (生物素和抗生素相互作用) 标记。然后用血细胞计数工具

——**Luminex** 分析仪分析微珠。



Single-base extension (SBE) assay

每个微珠都是某个单突变的聚集点, 如果有突变, 便会发射生物素-抗生物素蛋白产生的单色荧光。以珠子为基础的平台与单碱基延伸、引物延伸、杂交和寡核苷酸连接反应能够

达到相同的功效。

Luminex 发明了悬浮点阵技术, 能够进行数百套检测, 因此经过 PCR 扩增后, 能够在一个孔中对 50 个二等位基因 (**biallelic**) 突变进行

基因分型，使其对大量突变特别是 HLA 或者 MICA 中的单基因突变研究效果更佳。多路技术降低了分析成本，但优化多元反应也很困难。

质谱法 (Mass Spectrometry)

原则上，添加到引物末端的核苷能够直接依据质量，利用通过基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix—assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectroscopy, MALDI—TOFMS)直接检测出来，这是一种不需标记的方法。单碱基延伸产物质谱结果能够显示所添加的核苷。

MALDI—TOFMS 需要大型设备，但因为高度多路技术和高通量分析，这种方法的成本只为 0.03 美元/单突变，只是备的成本限制了其普及。MALDI—TOFMS 还能实现利用非常少量的 DNA 的超高通量分析。最主要的

MALDI—TOFMS 平台是 Sequenom 的 MassArray 基因分型系统。

忠告

一次基因分型分析所能够检测的遗传突变的数量正在快速增长，比如能进行全基因组联合研究的微点限杂交 (Hybridization to microarrays, 生物通编者译)。虽然实验过程比较简单，但对于有多个旁系同源体的基因或相关的假基因，不能简单地相信自动分析仪或者微列阵得到的结果。研究它们的突变，首先要对这些片段进行选择性扩增和基因分型，基因的数量无关紧要，而且，单核苷酸多态性只代表了基因组突变的 80%。还有要牢记一点：全基因组相关性研究并不是检测全基因组。(生物通：小鞠 张迪)



让您以意想不到的价格 购买高品质PCR仪

为了热烈庆祝Bio-Rad成功收购MJ Research 三周年，回馈广大中国用户对Bio-Rad 产品的厚爱，我们特别推出MJ Mini PCR仪，以超低优惠价格促销----让您以意想不到的价格购买高品质PCR仪。另外，凡购买MyCycler和iCycler任一款PCR仪，即赠送Bio-Rad核酸水平电泳槽一个。促销日期从2007年7月15日起截止到2007年10月31日。机会难得，欲购从速！



凡在2007年7月15日到10月31日购买Bio-Rad以下任一款PCR仪，即赠送Bio-Rad水平电泳槽一台 (Cat.No.170-4467 MINISUBCELLGT)。多买多得！

- 紫外透光性好，胶可放在胶托上直接紫外检测
- 胶托带荧光标尺，方便判断条带大小
- 灌胶装置可制备不同大小的凝胶，使用简单，无需胶带。
- 安全电泳槽盖

联系我们：

Bio-Rad上海办事处
Tel: 021-64260808-31
Fax: 021-64264988
联系人：任琛

Bio-Rad北京办事处
Tel: 010-82675748-318
Fax: 010-62529800
联系人：周郁松

Bio-Rad 广州办事处
Tel: 020-87771498
Fax: 020-87751142
联系人：何咏华



十步优化膜片钳技术

自 1978 年 Bert Sakmann 和 Erwin Neher 将膜片钳技术 (patch-clamping techniques) 带入了我们的实验室——他们也因此获得了 1991 年的诺贝尔奖，这种技术就得到了越来越广泛的应用。作为先进的细胞电生理技术，膜片钳已成为了研究离子通道的“金标准”：这种技术可以证实细胞膜上离子通道的存在并能对其电生理特性、分子结构、药物作用机制等进行深入的研究。

应该说膜片钳技术不是一个普及度高的实验技术，它需要一些特殊仪器，比如膜片钳实验系统，微电极放大器，也需要操作人员补充一些电学方面的基本理论。来自英国赫特福德郡大学细胞与膜生理学的 Areles Molleman，一位膜片钳方面的专家告诉我们，膜片钳技术的关键在于在细胞膜和微管 (micropipette) 之间获得一个 seal (密封)，以下是他在 *Patch Clamping: An Introductory Guide to Patch Clamp Electrophysiology* 中提到的膜片钳技术的关键点：

1. 动作轻柔

当将微管 (micropipette) 放置到 holder 上的时候，你可以很容易的在你和放大器 (amplifier) “热”电极之间产生电接触。如果不与地面电位 (electrical ground) 连接的话，那么就像是一个巨大的触角，会引起很大的噪音。这会造成一些放大器的损伤，尤其是如果你聚集了一些静电噪音的时候。利用空余的那只手接触地面，或者在放置微管之前连接金属丝到地面电位，后者可以在你作为法拉笼 (Faraday cage，又称静电屏蔽笼，用以防止杂电场对膜片钳放大器的探头电路的干扰) 一部分的时候减少噪音。

2. 利用少许压力

在靠近液体表面和接触细胞之前要在微管溶液中施以 4-6 英寸的水压，这可以通过膜

片管 holders 另外的线路，用嘴更好——一个简单的 U 试管。这种电压能可以让 bath 中不留任何碎片，当然吸液管溶液也必须十分干净。

3. 不用在意吸液管被打碎

每一步由于对操纵器和光学方面的感觉不同都会有所差别，在将吸液管定位在细胞附近的时候，刚开始总是会打破几个吸液管的，这是十分正常的。不要因此而沮丧，要分型一下每次做错的原因，这样能获得很快的进步，而且在到下一步的时候依然要重复这个过程。

4. SUPERFUSION 是开还是不开？

打开 Superfusion 会导致一些化学物品的浪费，也许是昂贵的药物，而且会增加吸液管污染的可能性，但是，如果你的细胞并没有很好的贴在底物上，造成紧密的 seal (没有 superfusion)，那么打开 superfusion，能很容易的调整细胞，打破密封。另一持续打开 superfusion 的原因是微环境调控，除非你能很确定稳定和 pH 值不会大幅度的变化，那么还是让 superfusion 开着吧。

5. 吸液管大小

一个孔径尺寸大的吸液管有利于整个细胞的记录，这主要是因为用 suction pulses 容易穿过细胞膜，因此在记录的过程中不用重新再来，细胞质中吸液管溶液也可以很快得以交换。因此在整个细胞记录过程中吸液管的大小

是由获得 **seals** 的成功率决定的, 可以尽可能的考虑大尺寸的吸液管, 电阻大约是 **2MΩ**。另外小孔径的吸液管适合于单孔道记录。

6.选择正确的角度

要进行一次好的密封就需要一次优良的接触, 吸液管接触细胞的角度通常是 **45** 度到 **60** 度, 在放置吸液管的时候, 试着选择细胞上与吸液管轴垂直的部分。这不难, 但是在平展的细胞上可能有些难得, 有时可以利用由细胞核造成的凸出来完成。而纺锤形状的细胞则可以以 **90** 度来靠近其轴心。

7.吸出

什么时候就能关掉超压 (**over-pressure**), 完成一个 **seal** 呢? 在靠近一个摆动检测脉冲 (毫伏) 的过程中就说明吸液管“看到”了电阻 (电流反应越大电阻越低), 接近细胞会增加电阻, 降低电流反应。在许多例子中, 大约 **10%** 的下降就说明要关掉 **suction**, 但是不同的细胞类型有不同的情况, 而且超压应用的情况也有影响。也就是说, 一旦一种细胞类型建立了可靠稳定的规则, 那么就把它记录下来。从压力到吸出的转换 (通常是由口来完成) 应该是快速和顺畅的, 如果你离开吸液管一会 (没有压力或者 **suction**), 那细胞膜就会摇摆, 污染吸液管口, 无法完成良好的 **seal**。

8.承认错误

如果发现你监控的电阻大幅度降低, 那么

放弃这一次。你的 **tip** 将会被污染, 就像上面说的那样, 无法得到好的密封, 承认错误, 用一只新的吸液管重新开始是最节约时间的方法。

9.鉴别和去除漂移

有没有在利用显微操作器 (**micromanipulator**) 这种低漂移特征的仪器操作时, 发现微吸管在显微镜下滑动? 在对显微操作器抱怨之前, 你需要确保你的操作器已调节减少振动了。漂移有可能是由于操作器装载过重, 或者电缆和与 **headstage** 接触的试管扭转力过大, 请尽量避免这些情况的出现。

10.当钳出来.....

在完成一个密封 (**seal**) 之后, 可以加以 **holding potential**。通常你所认为的是一个来自细胞的休眠细胞膜电压, 在吸液管下的膜片将会被去极化, 但是一旦你取出, 细胞将不再能从放大器里获得强大的电流 **jolt**。这种钳出可以通过吸出脉冲 (**suction pulse**) 或者电流脉冲 (**current pulse**) 完成。吸出对于尺寸大一些的吸液管 (**<3MΩ**) 比较合适, 而另一个则适合于小吸液管 (**>6MΩ**), 中间的范围需要反复试验, 但是一旦你对你的细胞有了一套方法, 那么就坚持下去, 有时一些污染会骗了你。用小量持续的 **suction**, 而电流脉冲则可以不断的增加, 如果你看到许多噪音出现, 回到原来的 **suction** 脉冲。 (生物通: 张迪)



阳光生物网
www.sunbiotech.com.cn
 主办: 北京三博远东生物技术有限责任公司



北京三博远东 合成、测序专家





如何选择紫外分光光度计？

主要考虑光学构造、光谱范围、样品类型和分析工具。

研究者们有众多的新紫外光分光光度计可选。自从 60 年前紫外分光光度计出现在实验室的工作台之后，这种能解决广泛难题的仪器可以从单一波长的测量到高性能多光谱进行测量分析。科学家们选择时需要根据自己实验室的需要和目的用途来考虑，光学构造和光源、探测方法、样品类型和数据处理等都是要考虑的因素。

光学构造 (OPTICAL CONFIGURATION)

一般来说，紫外光分光光度计分为单光束和双光束两类。顾名思义，单光束型主要是依赖单束光进行测量。一束给定波长的光通过对照物，然后再通过实际样品溶液，就能得到吸光结果。

双光束型则是通过一个斩光轮 (mirrored chopper wheel) 将一束光分成两束，分别测量对照样品和实际样品。可以最小化光漂移 (lamp drift) 和减少测量时间。一些双光型光度计不利用斩光轮，而是利用一种光束分光器来代替，将一束光分成两束平行的光然后同时测量对照样品和目的样品。因为增加了测量的速度，所以双光束分光光度计在测量一些溶液随时间动态变化的研究中大有用处。

光源和检测方法 (LIGHT SOURCES AND DETECTION)

分光光度计的光谱也是需要考虑的一个重要因素。实验室研究人员希望省钱购入专门仪器定量核酸、蛋白或者细菌的生长情况。例如 Amersham Biosciences of Piscataway 公司的 GeneQuant II 能在 230、260、280、320、595 和 600nm 的波长下测量样品。如果需要更大的灵活性，研究者可以考虑一种更高性能的宽光谱仪器，可以程序性地进行 ELISAs 分

析和比色分析。

紫外分光光度计一般覆盖 190nm 和 380nm 波长，通常利用氘灯照明。一些特殊的仪器可以提供满足光子学和半导体研究需要的光谱范围。Varian of Palo Alto 公司的 Cary Deep UV 和 Hitachi High Technologies of Tokyo 的 U-7000 Automated Vacuum UV System 就是这样的仪器。

一些仪器具有多种光源供选择：紫外光、可见光和甚至红外光 (780 nm 至 3,000 nm)。钨灯和卤素灯一般只覆盖可见光部分 (大约 380 nm 到 800 nm)。而氘灯则可以覆盖紫外光和可见光区域。

分光光度计的带宽 (bandwidth) 很大程度上依赖于单色仪的狭缝的宽度。可以投射出实验精确要求的光谱。一种严格带宽使得仪器能对复杂的混合物进行高分辨率的吸光测量。可变的单色仪的狭缝宽度能使一台分光光度计满足多种实验需要。

为了测量吸光值，分光光度计制造商通常使用光电倍增管 (photo-multiplier tubes, PMTs) 和光敏二极管。PMTs 提供快速的反应时间和良好的灵敏度，并且可以在紫外光谱调节至特定的范围。但一些制造商依赖于光敏二极管的动态范围在数秒内行使所有的光谱测量。

样品类型 (SAMPLE FORMAT)

在大部分的样品类型中,分光光度计可接受样品孔、小玻璃管 **cuvette**、吸浆管和微孔板。微孔板主要是满足高通量的需要和大规模的实验室需求。但尽管对于小实验室来说,制造商仍然提供了多种容器转换器来满足通量的要求和减少实验时间。

用小试管 **cuvette** 装样品容量一般从 1 μ l-5ml, 并且一些仪器装备了各种样品固定物来满足各种改变需要。体现了柔韧性。

数据管理 (DATA MANAGEMENT)

大部分单机型的分光光度计包含了驱动仪器运行和管理数据的软件。高性能的仪器,通常与 PC 机一起联用,需要从制造商提供额外的软件。同时用户也可以选择升级软件以满足他们的需要。

另外一个值得考虑的因素是数据的最终使用。各独立实验室都有各自感兴趣的实验结果。例如一些药物机构需要考虑美国 FDA 的要求和欧联盟的药物评价机构的要求选择不同的数据处理方式。 (生物通: 亚历)



加入盈信 实现梦想

北京盈信阳光生物技术有限公司于2005年正式成立, 在近两年的经营中, 凭借自身的努力和独立开发的BSP(BioServer Programme) “[生物产品电子商务系统](#)”, 已在业界产生了一定的规模效应, 仅在北京已经拥有600个实验室用户。

为促进中国生命科学科研服务领域工作的开展, 建立统一、透明、先进、规范的营销模式, 搭建一个资源共享、具备广阔发展空间的平台, 同时达到供需双方共赢, 实现企业、个人共同发展的目标, 计划于2007年始在全国各大区设立区域管理中心并统筹规划全国的营销工作, 各区域管理中心负责管理其所辖区域内客户经理的工作。

现面向社会诚招各区域管理中心客户经理, 任何有志于进行生物试剂、耗材仪器类产品销售的个人、接受过高中以上正规教育, 均有机会成为公司一员。公司实行基本底薪、业绩奖励与市场推广费用包干相结合的薪酬及奖励机制。

希望你的加盟能为你和盈信创造更美好的未来!

我公司于2006年成功推出了BioServer Program,全国已经拥有一千多用户。在全国范围内诚招合作商, 推广BioServer Program(BSP)和代理销售AndyBio Inc.等产品,更详细的BSP介绍请登陆我公司网站:
www.bioserver.com.cn, 我们将给合作商更多更好更全面的商业机会, 欢迎全国各地从事生命科学产品销售的公司参加。请将公司介绍、业务范围、业绩规模、联系人等信息发至:info@bioserver.com.cn, 我们会与您联系,或电话垂询:010-65858899转金先生、嵇先生。

北京盈信阳光生物技术有限公司目前代理的产品有:

美国AndyBio Inc.产品中国总代理——常规生化试剂、小型仪器

美国Molecular Biology Resources,Inc.产品中国总代理——各类酶试剂

AMRESCO Inc.产品战略合作伙伴HyClone产品的特约经销商