

## 一、研究前沿：

万众瞩目《自然》首次大规模测序基因组比对

冷泉港实验室：低成本基因研究方法

《自然》最新发布肺癌基因组图谱

各大媒体聚焦《自然》彩虹新技术

王晓东最新文章解析癌症研究新发现

《自然》：耳鸣的根本原因

人类基因组重组热点争论

我们为什么会慷慨大方？

BCM：“负负得正”的基因

《Cell》：通往新癌症疗法的路上

家猫基因组测序完成

华裔教授《自然》子刊：最新技术解开奥秘

## 三、专题聚焦一：

2007 年度诺贝尔生理学/医学奖揭晓

解读 07 诺贝尔医学奖技术奥秘（图）

获 07 诺贝尔生理/医学奖成就：基因敲除的新成果汇总

2007 美国诺贝尔奖：拉斯克奖公布（图）

## 四、专题聚焦二：

谁来为我们的实验室安全性负责？

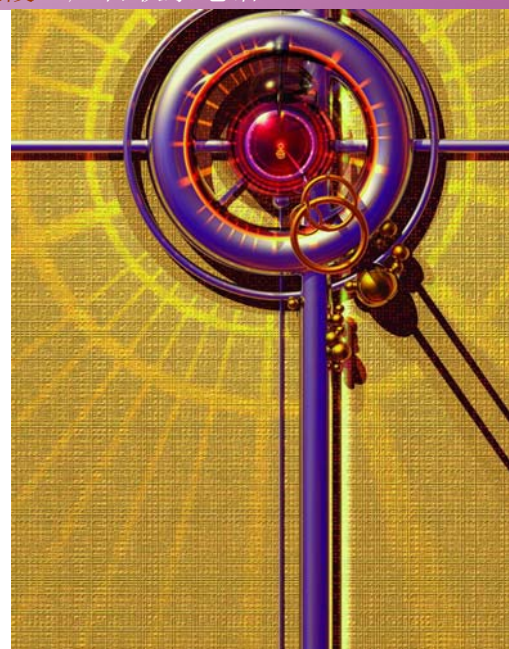
您身边发生着的事——不容忽视的实验室安全问题

07 生物实验室安全性调查之读者感言

实验室安全性从导师抓起？

生物实验室安全性]说出自己的声音！

[外派观察员特稿]生物安全实验室安全事故预防及对策



## 二、焦点关注：

2007 最佳学术研究院排名

如何选择生命科学研究院？

上海交大等最新《细胞》挑战原有类泛素蛋白酶理论



## 五、技术前沿：

RNAi技术突破：siRNA体内传递机制

跳跃基因：更安全的基因传递系统

酶标仪：不选贵的，只选对的

Pichia酵母表达系统使用心得



# 万众瞩目《自然》 首次大规模测序基因组比对

生物通报道：来自麻省理工与哈佛大学 Broad 研究院（The Broad Institute），加州大学 Santa Cruz 分校，Wellcome Trust 基因科学园（Wellcome Trust Genome Campus）Sanger 研究院，丹麦哥本哈根大学，比利时布鲁塞尔自由大学（Universite libre de Bruxelles, ULB）等多国研究人员组成的研究小组测序分析了 12 种果蝇的基因组，从中揭示了基因和基因组进化的奥秘，以及识别了动物 DNA 中的功能性元素。这是首次进行的如此大规模的测序基因组对比，研究成果公布在 11 月 7 日的《Nature》封面上，同期配发了一组重要论文，除此之外，在《Genome Research》和其它杂志上也发表了 40 多篇相应的文章，引起了基因组研究领域，乃至整个生物研究领域的轰动。

其中《Nature》配发的文章包括：

1. 中心的一篇是由“果蝇 12 基因组联合”发表的关于 10 种果蝇基因组序列的论文。该文章将 10 种新测序的基因组（所对应的果蝇种分别为 *sechellia*、*simulans*、*yakuba*、*erecta*、*ananassae*、*persimilis*、*willistoni*、*mojavensis*、*virilis* 和 *grimshawi*）与两个以前已知的序列（分别对应黑腹果蝇 *D. melanogaster* 和 拟暗果蝇 *D. pseudoobscura*）进行了对比。由此获得的遗传变异数据库对关于推动物种形成的演化力的研究非常有价值（203 页）；

2. 第二篇合作论文对这 12 个果蝇基因组序列进行了分析，以寻找在演化过程中保留下来的元素，并且报告了很多特定序列主题在保留与功能之间的关系。研究人员发现了一个精细的监管网络，其作用是识别对蛋白进行编码的基因和外显子、RNA 基因、微 RNA 和它们的作用靶标（219 页），一篇“News and Views”文章对这些基因组论文做了讨论；

3. 另外两篇研究论文利用新的基因组数据来研究基因表达：第一篇研究的是表达偏向于雄性的基因和对每个种来说独特的基因

（233 页）、第二篇对果蝇性染色体上的基因剂量补偿的演化进行了跟踪（238 页）；

4. 四篇新的评论文章分析了关于果蝇的最新研究工作是怎样将这种在遗传上适应性很强的实验室模型动物带入激动人心的新领域的。Pierre Leopold 和 Norbert Perrimon 对内分泌和体内平衡方面的研究进展进行了评论，这些进展奠定了果蝇作为哺乳动物生理学、甚至人类疾病研究模型的地位（186 页）；

5. Leslie Vosshall 对将果蝇的神经回路和行为联系起来的重要研究工作进行了评论；John Lis 对重写了教科书上关于转录和基因表达的观点的果蝇研究工作进行了评论（193 页）。Claude Desplan 对过去 30 年间果蝇研究工作的变迁进行了综述。（来自 NatureChina）



Broad 研究院, MIT CSAIL 的副教授 Manolis Kellis 表示, “获得这许多亲缘关系如此接近的种类的测序结果,能帮助我们研究导致果蝇家族进化树形成的演化力量,并在一个系统的角度上分析果蝇基因组的功能部件。”

从一方面来说,研究人员分析了不同种类的差异有助于了解在过去 100 万年间,果蝇这种生物是如何进化的,这些分析揭示出,虽然果蝇基因组中许多属性实际上上保守的,但是每一种品种都有自己的独特的特征。研究发现在黑腹果蝇的大约 13700 个蛋白编码基因中仅有 77%是与其它 11 种果蝇种类相同的,比如说,与环境相互作用的以及繁殖的基因表现出适应性进化 (adaptive evolution), 这意味着现存的生物也许具有一些生存优势。

另一方面,研究人员分析不同种类的相似性则有助于定义果蝇基因组的功能性元件,一个基因组中不会改变 (保守) 的部件就是经过进化后保留下来的部分,这些区域扮演着重要的角色,因此基于这些保守区域的保守程度,

通过这些基因组比对就能揭示出基因组中哪些区域是功能性的。

Kellis 表示,“聚焦于基因组中的这些保守区域是研究发现进化保留的一个重要的方式”,“而且通过了解这些保守区域中变异的更细微模式,我们能预测这些区域的功能作用。”  
(生物通: 张迪)

关于此次研究的详细数据,可以访问 NHGRI 资助的果蝇数据库:

<http://flybase.bio.indiana.edu>,

关于果蝇基因组序列,也可以访问美国国立生物技术信息中心 NCBI

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 或以下两个数据库: EMBL-Bank

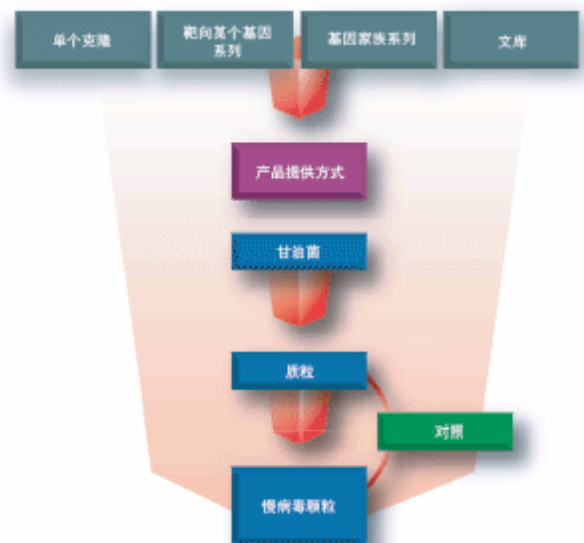
(<http://www.ebi.ac.uk/embl/index.html>) 和 DDBJ ([www.ddbj.nig.ac.jp](http://www.ddbj.nig.ac.jp))。

原文检索: Nature 450, 219-232 (8 November 2007) | doi:10.1038/nature06340; Received 21 July 2007; Accepted 4 October 2007 Discovery of functional elements in 12 Drosophila genomes using evolutionary signatures [Abstract]

## 100%满意度保障

针对一个靶基因, 常规设计并合成最少3条siRNA, 我们确保其中至少2条siRNA达到75%以上的抑制率 (mRNA水平)

**极低价体验至2007年底**  
**--3120RMB/基因 (3对siRNA)**



[sigma-aldrich.com](http://sigma-aldrich.com)

热线电话: 800-819-3336  
email: orderCN@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C-H座  
电话: 010-65688088  
传真: 010-85801346  
邮编: 100022

**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

**SIGMA**  
Life Science





# 冷泉港实验室：低成本基因研究方法

生物通报道：来自冷泉港实验室（CSHL），霍德华休斯医学院，NimbleGen Systems（现属 Roche 公司）的研究人员报道了一种比较于现有分析技术，更有效，成本更低的从人类基因组中获取及分析数据的新方法。这一种新方法，被称为选择性重新测序法（selective resequencing），已经应用到了许多种研究中，包括在主要的疾病，比如癌症和精神分裂症中寻找变异基因的基因组区域等。

这一研究由冷泉港实验室分子及细胞生物学家 Gregory Hannon 博士，以及基因测序中心主任 W. Richard McCombie 博士领导完成，研究成果公布在《Nature Genetics》杂志上。

基因序列或者目标基因组区域是检测不同人类复杂疾病，譬如癌症，哮喘和心脏疾病等的相关突变的一个重要方面，目前重测序特异基因组区域的筛选的主要方法是对特异 DNA 片段的 PCR 扩增方法，但是 PCR 受限于扩增序列的长度，很难用于数量大，片段长的复杂基因组区域，并且在像是人类这样的复杂基因组中，由于存在重复区域，PCR 方法也存在局限性。

CSHL 的这一新方法的精髓所在就是能帮助基因组科学家们节约大量的时间和劳力，只通过捕捉和再测序，或“拼接（spelling out）”，就能从相对小和集中的区域中获取基因组编码，而不需要对整个基因组进行测序。

Hannon 博士表示，“在实际操作中，这就意味着为科学家们打开了一道通往新世界的门，从而研究人员能在比较的基础上研究大部分人群的基因组——而这正是了解引发疾病的基因突变的基本。”

McCombie 博士也补充道，“我们的方法

能帮助科学家们靶向基因组中的小片段，做到利用好的 idea，在适当的 budget 内，完成重要的 work。这就给了研究人员进行真实有意义的基因组范围内比较研究的机会。”

文章中，研究人员利用了一套 7 个灵活，高密度芯片，从一个 DNA 样品上获取了编码蛋白的对应基因组序列，在获得这些外显子后，研究人员进行了富集，然后输送到了一个最新型的测序机器上，这种技术之所以称为筛选重测序，就是因为它比较了最新获得的靶序列——在这一研究中，指的是外显子，其中参考了人类基因组计划中的整个基因组序列。

这一研究系统在之前的《Nature Methods》杂志上也发表了一篇成果报告，具体见[《自然方法学》：序列捕捉新方法](#)。（生物通：张迪）

原文检索：Nature Genetics Published online: 4 November 2007 | doi:10.1038/ng.2007.42  
Genome-wide in situ exon capture for selective resequencing [\[Abstract\]](#)

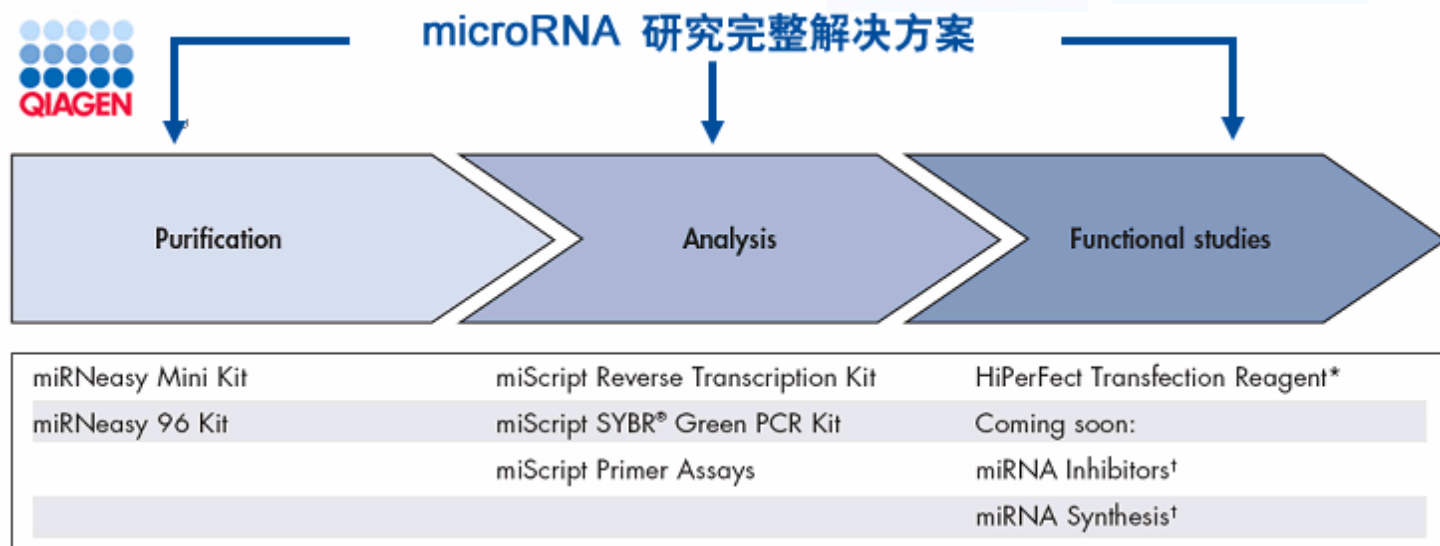
冷泉港实验室为一家非政府、非盈利的科研与教育机构。在美国科学院院士、英国皇家学会会员 Bruce Stillman 博士的领导下，大约 330 名科学家在这里就癌症、神经生物学、植物遗传学和生物信息学进行创造性的研究。冷

泉港实验室是美国国家癌症研究所（National Cancer Institute）在美国指定的八所基础研究中心之一，也是其中唯一横跨三个州份的基础研究中心。

冷泉港实验室成立于一个世纪以前，如今以其丰富的教育活动而享誉国际，其中包括一项广泛的科学会议计划和每年吸引 8 千多名科学家的课程。冷泉港实验室下属的“沃森生物科学学院”（Watson School of Biological Sciences）以实验室主席、诺贝尔奖获得者 James D. Watson 的名字命名，它为少部分格外优秀的学生提供富于创新的博士教育项目。此外，冷泉港实验室还设有培训大学生的“大学生研究项目”（Undergraduate Research Program）、面向中学生的“未来合作伙伴项目”（Partners for the Future Program）、以及针对小学生的“自然研究”夏令营（Nature Study summer camp）。另外，实验室还在冷泉港村开办了“多兰 DNA 学习中心”（Dolan DNA Learning Center），为理科教师、学生

和美国其它团体提供实验室场地。冷泉港实验室的其它组成部分还有冷泉港实验室出版社，共出版 5 种学术期刊和多种实验室手册和书籍；设在劳埃德港（Lloyd Harbor）的班伯里会议中心（Banbury Conference Center），举办参与者少的专业会议；还有位于伍德伯里（Woodbury）附近的癌症基因组研究中心（Cancer Genome Research Center）。

冷泉港实验室的科研工作是众多科学家集体协作的成果，具有世界影响力。每年，实验室还举办大约 20 场学术会议，加强交流与互动，吸引来自世界各地 7000 多位科研人士参与。冷泉港实验室的科学家们还与其它实验室和大学、以及生物科技和制药行业的科研人员合作，旨在把基础科研领域的新进展转化为拯救生命、丰富生活的实践。冷泉港实验室资源丰富，环境优美，年轻的科研人员都非常有兴趣作为硕士研究生或博士后在这里进行研究工作。



### 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

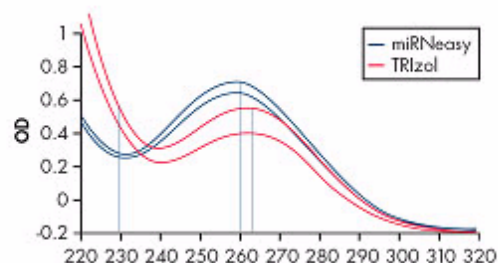


图1 高纯度RNA纯化，无苯酚污染



# 《自然》最新发布肺癌基因组图谱

生物通报道：来自美国 Dana-Farber 癌症研究所（Dana-Farber Cancer Institute），哈佛麻省总医院，德国乌尔姆大学（University Ulm），日本名古屋市立大学（Nagoya City University）等处的研究人员公布了肺癌遗传变异图谱，他们对肺癌细胞的遗传遗传特征进行了综述性的描绘，发现人类肺癌肿瘤中 50 多个基因组区域会时常发生增加或删减。这一研究成果公布在 11 月 4 日《Nature》杂志网络版上，也正迎合 11 月的“国际肺癌关注月”的主题。

哈佛麻省总医院的 Matthew Meyerson，这一研究的作者之一表示，“此次发布的癌症基因组图谱的长度和宽度都是空前的”，“这奠定了一个重要的基础，也揭示了调控肺癌细胞生长的一个重要基因，这些信息对于今后肺癌生物学的发展至关重要，也将帮助我们制定癌症诊断和治疗的新策略。”

另一位作者，哈佛麻省总医院主任 Eric Lander 也认为，“这一肺癌基因组图谱为我们理解肺癌这种严重的疾病提供了一个系统性的认识，肯定了一些我们所知晓的知识，也提供了许多解开迷惑的遗失的‘拼图’”，“从更深入的角度来说，这项研究也可以作为进行分析研究其它种类癌症的一个范例，实际上，目前这一研究已经成为了更为复杂的癌症遗传机理研究中的一项领军研究项目。”

全球范围内肺癌的发病率和死亡率均居癌症之首。同时，由于缺乏有效的早期发现手段，中晚期病例治疗花费大而且收效小，5 年生存率仅约 10%，使得肺癌防治成为癌症防治的重中之重、难中之难。我国肺癌的发病率和死亡率一直呈明显上升趋势。20 世纪 90 年代与 70 年代相比，我国肺癌的死亡率上升了 111.85%。到本世纪初，肺癌的死亡率已由 20 世纪 70 年代位居癌症死因的第 4 位攀升为第 1 位。由于已暴露的人群数目甚大，

上升趋势至少要延续 20~30 年。

近期在肺癌遗传学研究方面获得了一系列的进展，同样发表在《Nature》上的一篇文章中提到，研究人员在进行与肺癌有关的基因变异的新研究中，发现了一种在肺癌细胞扩散过程中发挥关键作用的基因。研究组将这个基因命名为 NKX2.1，这一基因可促进癌细胞的生长。此前，美国冷泉港实验室的研究人员也曾发现了 3 个新的肺癌致癌基因，它们和 20% 的肺癌癌变有关。这三个基因定位在人类 14 号染色体上，它们彼此相邻，其中两个基因在胎儿肺发育过程中起到关键作用。

而这篇新发表的研究成果也是来自一大型研究项目，即：肿瘤测序项目（Tumor Sequencing Project, TSP），这一项目的主要目的是为了创建一个肺癌细胞遗传差异基因组手册，癌症研究领域的科学家和临床医生共同参与这一研究项目。

TSP 项目研究人员对 500 多个来自肺癌病患的肿瘤样品进行了检测，利用大量高质量样品，研究人员确定了不同病人共同具有的遗传变异——这种遗传变异能够帮助确定引发癌细胞生长的重要基因。Meyerson 表示，“这一项目正在尽可能的招募肿瘤学家、病理学家和外科医生参与，因为他们多年以来一直致



力于从事防止肺癌病人组织免受损害的研究。”

为了能分析每一个肺癌肿瘤中的 DNA，研究人员利用了最新的基因组技术，来对人类基因组成百上千的遗传标记进行扫描，这种方法即单核苷酸多态性分析（single nucleotide polymorphisms, SNPs），这样获得的高分辨率图像就能帮助确定了肿瘤中基因组过多拷贝或缺失部分。然后利用 GISTIC 生物信息学分析方法，以及由同为第一作者的 Gaddy Getz、Barbara Weir，还有 Rameen Beroukhim、Jim Robinson 发展得出的观测分析 SNP 数据的方法识别基因组异常区域。

从而研究人员发现了频繁出现在肺癌病人体内的 57% 的遗传变异，这部分遗传变异中仅有约 15% 是我们之前所知晓的。另外这次研究也识别出了 14 号染色体上，两个已知基因与癌症相关，这两个基因之前从未和癌症联系在一起过。通过研究，Dana-Farber 研究院的研究人员发现其中的 NKX2.1 基因影响癌症细胞的生长。

目前正在进行 TSP 项目的第二阶段，在这一阶段中，研究人员将利用第一阶段的肺癌样品进行更为精细的遗传检测，利用高通量 DNA 测序方法，研究人员将对几百种人类基因的遗传编码中的细微变化进行研究。（生物通：张迪）

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP),主要是指在基因组水平上由单个核苷酸的变异所引起的 DNA 序列多态性。它是人类可遗传的变异中最常见的一种。占有已知多态性的 90% 以上。SNP 在人类基因组中广泛存在，平均每 500~1000 个碱基对中就有 1 个，估计其总数可达 300

万个甚至更多。

SNP 自身的特性决定了它更适合于对复杂性状与疾病的遗传解剖以及基于群体的基因识别等方面的研究：

1. SNP 数量多，分布广泛。据估计，人类基因组中每 1000 个核苷酸就有一个 SNP，人类 30 亿碱基中共有 300 万以上的 SNPs。SNP 遍布于整个人类基因组中，根据 SNP 在基因中的位置，可分为基因编码区 SNPs（Coding-region SNPs, cSNPs）、基因周边 SNPs（Perigenic SNPs, pSNPs）以及基因间 SNPs（Intergenic SNPs, iSNPs）等三类。

2. SNP 适于快速、规模化筛查。组成 DNA 的碱基虽然有 4 种，但 SNP 一般只有两种碱基组成，所以它是一种二态的标记，即二等位基因（biallelic）。由于 SNP 的二态性，非此即彼，在基因组筛选中 SNPs 往往只需 +/- 的分析，而不用分析片段的长度，这就利于发展自动化技术筛选或检测 SNPs。

3. SNP 等位基因频率的容易估计。采用混和样本估算等位基因的频率是种高效快速的策略。该策略的原理是：首先选择参考样本制作标准曲线，然后将待测的混和样本与标准曲线进行比较，根据所得信号的比例确定混和样本中各种等位基因的频率。

4. 易于基因分型。SNPs 的二态性，也有利于对其进行基因分型。对 SNP 进行基因分型包括三方面的内容：(1)鉴别基因型所采用的化学反应，常用的技术手段包括：DNA 分子杂交、引物延伸、等位基因特异的寡核苷酸连接反应、侧翼探针切割反应以及基于这些方法的变通技术；(2)完成这些化学反应所采

下转 P8 页

# 各大媒体聚焦《自然》彩虹新技术



生物通报道：来自哈佛大学大脑科学研究中心，分子与细胞生物学系的研究人员通过激活神经元中复合荧光蛋白，进行了前所未有的大脑和神经系统成像，获得了色彩斑斓的“大脑彩虹”（Brainbow），这有利于对大脑工作方式进行更深入研究。这一新技术刊登在 11 月份的第一期《Nature》杂志上，获得了广泛的关注，各大媒体纷纷进行了报道。

领导这一研究的是哈佛大学的  
Jean Livet, Joshua R. Sanes, 和 Jeff  
W. Lichtman。

利用大脑彩虹，研究人员能用将近 90 种不同的研究标记神经元，这是目前荧光标记方法的一个巨大进步，而且个体明亮色彩的神经元的视觉分辨率得到了提升，这也对于描绘大脑环路和神经系统及其有利。

对大脑神经元进行着色并不是什么新鲜的事，科学家早已利用转基因技术，将荧光蛋白基因转移到神经元中进行表达。但到目前为止，这种方法每次最多只能转移两种荧光蛋白基因，着色种类只有两种，但是仅仅两种颜色对于描绘

复杂的大脑神经网络是远远不够的。

分子与细胞生物学系教授  
Lichtman 表示，“就像是一台电视显示器混和了红色、绿色和蓝色，调和成了许多种颜色，神经系统中三种或更多的荧光蛋白混和也能产生许多不同的色调”，“目前神经学家能用于描绘神经系统的工具很少，大脑彩虹能帮助我们更好的绘制出大脑和神经系统中复杂的神经细胞”。除此之外，大脑彩虹还可以帮助追踪哺乳动物神经系统中复杂的发育过程——这一过程目前的了解还只停留在常用的术语上，从而能阐明许多发生在发育早期的许多大脑失序症状的根源。

上接 P7 页

用的模式，包括液相反应、固相支持物上进行的反应以及二者皆有的反应。(3)化学反应结束后，需要应用生物技术系统检测反应结果。

原文检索：Nature advance online publication 4  
November 2007 | doi:10.1038/nature06358;

Published online 4 November 2007 Characterizing  
the cancer genome in lung adenocarcinoma  
『[Abstract](#)』





# 王晓东最新文章解析癌症研究新发现

生物通报道：来自美国德州大学西南医学中心生物化学系，霍华德休斯医学院，Hamon 治疗肿瘤学研究所（Hamon Center for Therapeutic Oncology Research）等处的研究人员在一项研究中惊讶的发现了人类肿瘤细胞对一种 Smac 类似物的敏感性，揭示了 Smac 类似物作用的信号途径，作用方式，为进一步研究细胞凋亡提供了重要的信息。

领导这一研究的是知名的细胞生物学研究专家，美国德州大学西南医学中心终身教授和霍华德·休斯研究所研究员的王晓东博士，目前他担任北京生命科学研究所以所长。其研究小组的研究目标是在分子水平上理解细胞凋亡——一种细胞内固有的自身消亡的生化过程。同时，还希望在人类疾病如癌症中精确地找到这一基础生化过程的缺陷，并根据从研究中获得的信息来设计相应的治疗策略。

细胞正常凋亡过程的受损，往往是癌细胞发生的一个重要诱因，因此研究和探索细胞凋亡的机制为认识和治疗癌症提供一个重要的依据。Smac/DIABLO 是新近发现的一个重要促凋亡蛋白，它主要通过与 IAP（细胞凋亡抑制蛋白）的结合而间接促进细胞凋亡。

这篇研究报告围绕着一个 Smac/Diablo 的小分子类似物，这个小分子在之前的研究中发现能特异性的阻遏 IAP 蛋白的细胞凋亡抑制活性，也能通过细胞表面死亡受体，以及化疗药物诱导来增强细胞凋亡。研究人员对 50 个人类非小细胞肺癌细胞系（non-small-cell lung cancer cell lines）进行了检测，结果惊讶的发现，这些细胞系中大约四分之一对于 Smac 类似物（Smac mimetic）的单独使用是敏感的，这说明在这些细胞中开启了一个细胞凋亡信号，并且被 IAP 蛋白检测到。

进一步研究发现这些信号即自分泌（autocrine-secreted）细胞因子肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor alpha，TNF $\alpha$ ），Smac 类似物对 TNF $\alpha$  作出反应，促进一个 RIPK1 依赖性 caspase-8 活性复合物的形成，从而导致细胞凋亡。

这一研究揭示了自分泌的 TNF $\alpha$  信号可以促进人类肿瘤细胞对 Smac 类似物诱导的细胞凋亡的敏感性，从而揭示了 Smac 类似物作用的信号途径，作用方式，为进一步研究细胞凋亡提供了重要的信息。（生物通：张迪）

原文检索：Cancer Cell, Vol 12, 445-456, 13 November 2007 Autocrine TNF $\alpha$  Signaling Renders Human Cancer Cells Susceptible to Smac-Mimetic-Induced Apoptosis [[Abstract](#)]

附：人物特写：最年轻的美国科学院院士王晓东

“我加一点，晓东是今年新入选的美国科学院院士。”坐在身边的许田教授为王晓东的自我介绍作补充。面对今天北京国际会议中心里的五六十名记者，王晓东这位美国科学院最年轻的院士，在 29 秒的简短介绍中“忘记”了自己的一切头衔。

经过 4 天的苦苦等待，记者终于见到了这位 41 岁的科学家。他本人看起来比个人网站上的照片略显消瘦，这也许与他频繁的穿梭

于中美两地有关。现任美国德州大学西南医学中心终身教授和霍华德·休斯研究所研究员的王晓东，从去年起担任了北京生命科学研究所的所长，于是他用每两个月有两周的自己私人时间飞回国内主持北京的工作。他解释说“刚建立不久的研究所还处在筹备期，我的主要工作是在北美招揽人才。”

王晓东所从事的是细胞凋亡规律的研究，凋亡指的是人体细胞的一个自毁装置。很多癌症就是因为细胞自毁过程无法正常启动，细胞数目越来越多造成的。2000年，他和助手们进行了一项实验，研究一种神秘的线粒体蛋白质细胞 Smac，这种细胞可以打破肿瘤的“坚硬堡垒”，诱使肿瘤细胞“自杀”，对研究治疗癌症方法有重要帮助。从1996年他建立起自己的研究室后，他的论文成果在8年间被其他科学家引用超过了15000次，目前担任王晓东所在生物化学系主任的麦克奈特评价说：“王晓东是过去10年中引用率最高的科学家之一，当选国家科学院院士是对他工作的恰当承认。”美国科学院院士是美国科学界的最高荣誉。

当被问及同时身兼中美两地科研项目领导人情况下，心在何方，如何衡量项目知识产权时，这个爱看足球的科学家说：“我觉得，这个问题用看体育比赛来比喻更贴切一些，每次中国队和别人比赛，你也知道我会向着哪一方。从知识产权上，国际上有非常清晰的办法：根据某地方投入的多少来分享知识产权。”

这位1980年进入北京师范大学的河南新乡人，在本科期间并没有表现出什么“特异功能”。“特别刻苦”是他的本科老师何大澄给他的评价，“他的成功具备了四个有利条件：第一是刻苦学习，这是基础条件；其次，人要聪明一些；再者，要处在一个有可能产生突破的领

域；还有就是好的导师带领。”王晓东在亚特兰大的埃莫里大学攻读博士后，与获得过诺贝尔奖的科学家约瑟夫·戈德斯泰因及迈克尔·布朗共同从事科研工作。

昔日的学生成为了今天的老师，为了所带领的博士生们能够顺利毕业，“有出路”，王晓东明年5月才能全心投入到北京研究所的工作。这种负责任的态度还体现在他的“成果理论”上：“我一直对我的学生说：我并不在意你得到了什么，但是我对你如何得到的非常在意，你如果学会了科学的方法，又努力地去这个事情，你怎么可能没有成果；但是如果你没有用科学的方法，你即使有了成果也是不可靠的，是瞎猫碰上死耗子。”

王晓东在美期间每年都回国教书，他和十几个在美国有教职的大陆留美学者组成了一个团队，为北大和清华等高校联合组织了一个名叫“BIO2000”的研究生课程项目。在复旦大学和母校北师大也有讲学活动。

### 王晓东 博士

北京生命科学研究所资深研究员

美国国家科学院院士

霍华德-休斯医学研究所研究员

美国得克萨斯大学西南医学中心生化系教授，  
讲席教授

### 教育经历

1984

北京师范大学生物系学士

1991

美国德克萨斯大学西南医学中心生物化学博士

### 工作经历

2004

获美国科学院分子生物学奖，并当选美国国家

科学院院士

2003-

北京生命科学研究资深研究员

2002-

霍华德-休斯医学研究所研究员

2001-

美国德克萨斯大学西南医学中心生物医学科学杰出首席教授

1999-2001

美国德克萨斯大学西南医学中心生物化学系副教授

1997-2002

霍华德-休斯医学研究所助理研究员

1996-1999

美国德克萨斯大学西南医学中心生物化学系助理教授

1995-1996

Emory 大学医学院生物化学系助理教授，从事哺乳动物细胞凋亡的生物化学途径的研究

1991-1995

美国德克萨斯大学西南医学中心 Joseph L. Goldstein and Michael S. Brown 实验室进行博士后训练，从事基因表达的胆固醇调节的研究

1986-1991

美国德克萨斯大学西南医学中心师从

Richard A. Padgett 攻读博士学位，从事研究哺乳动物前信使 mRNA 剪切的研究

1984-1985

北京师范大学师从薛绍白教授撰写学士论文，研究哺乳动物细胞周期调控

研究概述

我们的研究目标是在分子水平上理解细胞凋亡——一种细胞内固有的自身消亡的生化过程。同时，我们还希望在人类疾病如癌症中精确地找到这一基础生化过程的缺陷，并根据我们从研究中获得的信息来设计相应的治疗策略。

我们在研究中运用了多种实验方法，涵盖了生物化学、分子生物学、细胞生物学的最新技术。同时，我们和其他的实验室也有非常活跃的合作，合作领域涉及线虫、小鼠等模式系统的遗传学，包括 X-射线结晶学、电子显微镜的结构生物学，以及高通量筛选化合物库及化学合成的化学生物学。我们计划在 NIBS 建立这些技术并使这些技术能为所有 NIBS 的实验室利用。在 NIBS 的实验室将继续研究细胞凋亡的生化途径。同时，我们将研究 RNA 干扰(RNAi)的生化机制及其在哺乳动物系统中的生物学功能。

## 尊敬的客户：

为了方便您的查询，为您的研究工作提供更多的便利，为您节省更多宝贵的时间，普洛麦格(北京)生物技术有限公司在2007年隆重推出中文版目录。即日起，您可以向[Promega各地代理商](#)索取，或下载[申请表](#)直接向我公司索取。我们会在第一时间将目录送到您的手中。

另外我们还为您提供[在线英文目录](#)，您可以根据需要自由选择。

更多Promega技术资料 and 最新的市场活动，敬请浏览：[www.promega.com.cn](http://www.promega.com.cn)。



普洛麦格(北京)生物技术有限公司全体员工向广大客户致以最诚挚地祝福，并将一如既往，为您们提供最新的研究工具、专业的技术支持和全面的客户服务。！





# 《自然》：耳鸣的根本原因

生物通报道：美国约翰-霍普金斯大学的神经生物学家最新研究发现，导致耳鸣的原因很可能是耳朵里的神经细胞在“闲聊”。这项新发现公布在 11 月 1 日的《自然》杂志上。该研究成果将为耳鸣治疗提供理论依据。虽然该研究是用小鼠进行研究，但因为人类和小鼠的耳朵结构很相似，因此研究结果对人类也同样具有意义。

已经知道，哺乳动物听觉系统一旦发育成熟，就会开始工作：声波进入耳道，被耳蜗里的毛细胞检测到以后，就会耳蜗就会把声波转化成电脉冲，而电脉冲就会沿着听觉神经进入大脑的听觉区域。

霍普金斯大学的德怀特·贝格斯和他的同事们在耳蜗尚未发育成熟的幼鼠身上发现了听觉系统的工作机理。尽管听觉系统还未发展成熟，但在幼鼠与听觉有关的大脑区域上仍然存在神经活动，甚至在没有任何声音信号输入的情况下，神经活动还是会出现。

在之后的研究中，他们发现非感觉性毛细胞(即支撑细胞)是上述现象的关键点，它能够解释为什么在缺少必要听觉器官，甚至没有声音输入的情况下，幼鼠仍然能完成“听”的动作。此前，研究人员一直认为支撑细胞只是一个旁观者，它没有参与神经交流。但是，贝格斯却在试验中发现，幼鼠耳朵里的支撑细胞有很强的电活动。

贝格斯小组还发现，支撑细胞会本能地释放 ATP(能量分子)，触发一个连锁反应，生成的电脉冲会被输送给大脑。而这一过程，根本不需要声音信号的输入。当耳朵还未发育完

全，或受到损伤检测不到声音时，ATP 就像是声音的替代物。支撑细胞就像是在为听觉系统做热身运动，以便它在将来可以更好地传递信号给大脑。

哺乳动物，包括人类在内，耳朵里都有支撑细胞。因此，在幼鼠身上的发现同样适用于人类。在孩子出生以前，支撑细胞很可能在长时间内制造噪音。贝格斯推测，支撑细胞的行为，是在为听觉系统投入使用而做好充足的准备。当幼鼠的听觉系统发育完全之后，支撑细胞就会停止释放 ATP，不会干扰耳朵对正常声音信号的检测。

耳鸣是一种耳神经学症状(听觉紊乱)，患者自觉耳内或颅内有声响(但环境中并无相应的声源)，外界环境越安静，耳鸣声越大。耳鸣的发生率较高，常为某些疾病的伴随症状，有时也可能是某些疾病的首发症状；耳科疾病常伴有耳鸣。耳鸣可以短暂或持续性存在。严重的耳鸣可以扰得人一刻不得安宁，令人十分紧张。如果是短暂性忽来忽去的耳鸣，一般是生理现象，不必过分紧张，可听之任之。如果是持续性耳鸣，尤其是伴有耳聋、眩晕、头痛等其他症状，则要提高警惕，尽早就医。

(生物通雪花)





# 人类基因组重组热点争论

生物通报道：有关基因组重组是否热点的争论又有了新内容。美国加州大学圣地亚哥分校的研究人员就人类基因组重组提出了一项新理论。他们研究的结果发表在 11 月 9 日的 PLoS Computational Biology 杂志上，研究支持了人类基因组中确实存在重组热点的理论。

Max Alekseyev 和 Pavel Pevzner 博士发展了一种分析复杂重组（包括易位 transpositions）的一种理论，该理论证实及时易位是一种主要的进化力量，哺乳动物基因组中仍然存在重组热点。

二十世纪七十年代，Susumo Ohno 提出了随机缺损模型（RBM, random breakage model），之后 Nadeau 和 Taylor 在 1984 年正式上升为假说。这个模型假定重组是随机的，并且在哺乳动物基因组会宗没有重组热点。大部分生物学家都相信这个模型具有预测能力。

然而，到了 2003 年，这个模型被 Pevzner 和 Tesler 推翻，他们提出了一种替代的染色体进化“脆性缺损模型”（FBM, fragile breakage model）。FBM 推测，人类基因组是一种由难发生重组的固化区域和容易发生重组的脆性区域的镶嵌体。RBM 的提出成为了科学界对这个问题分歧的开端。

近期大部分研究都指出了“存在重组热点区域”的理论，一些研究人员仍然支持 RBM 模型。这项新的研究则是重组热点问题争议的一个重要进展。（生物通雪花）

相关新闻：《自然》：染色体重组研究新发现在 2006 年 8 月 3 日的《自然》杂志上，来自宾西法尼亚州 Drexel 大学医学院的研究人员公布了有关染色体重组过程中分支迁移

的最新发现。

染色体的同源重组在 DNA 双链缺口修复和可靠的染色体种间隔离（chromosome segregation）中起到一种关键的作用。同源重组的机制包括寻找同源性和将一个断裂 DNA 分子末端插入到同源双链 DNA，益形成一种交叉结构，即 Holliday 结构（Holliday junction）。这种结构是 R.Holliady 在二十世纪六十年代首先提出来的。

一个 HJ（Holliday 结构）能够沿着 DNA 进行分支迁移（branch migration），从而增加或缩短异源双链（heteroduplex）的长度。

在原核生物和真核生物中，HJ（同源重组的关键中间体）存在的结构证据由电子显微镜提供。在细菌中，存在特殊的酶专门来促进 HJ 的分支迁移。但是在真核细胞中，人们还没有找到负责同源重组分支迁移的蛋白。

在这项新的研究中，研究人员证实 Rad54（一种 Swi2/Snf2 蛋白）以高的特异性与 HJ 类似结构结合，并依靠 ATP 酶促进它们的双向着分支迁移。这种活动似乎在人类和酵母 Rad54 直系同源物中也具有保守性。

在离体状态下，Rad54 被证实能够增强 Rad51 的 DNA 修复功能。Rad51 是一种关键的同源重组蛋白。但是，基因数据显示，

下转 P14 页



# 我们为什么会慷慨大方？

生物通报道：来自 Claremont Graduate University 的神经经济学家（neuroeconomist）Paul J. Zak 在 11 月 7 日的 PLoS ONE 上发表了一篇题为“催产素让人慷慨”（Oxytocin Increases Generosity in Humans）的研究论文。该研究是在他们两年前发表在《自然》杂志上的有关催产素和信任的新发现的延伸。

在这项研究中，Zak 和他的同事让参与试验者服用一定剂量的催产素和一种安慰剂，然后测试他们如何与陌生者分钱。结果基本上是一边倒：那些接受了催产素的人给出的钱比那些接收安慰剂的人多出 80%。

Zak 指出，这意味着尽管我们天生是利他、无私心的，我们还会在感觉对另外一个人产生移情作用时候很大方。就是这种“移情作用”使得我们打开钱包去大方地帮助陌生人。这项试验的结果证实了该研究组之前的研究发现：催产素影响信任，但是对慷慨程度的影响更加大。

催产素尤其能够影响人用钱时的慷慨程度。在之前的研究中，Zak 证实了催产素和信任之间的关联，从而弄清了古老的荷尔蒙导致大脑中化学变化的一个迁移——这在进化上很重要。因为我们越容易相信别人并合作，我们就越能够一起获益。

垂体后叶组织中所提纯的一种激素。由下丘脑的室旁核合成，系神经内分泌。合成后沿室旁核-垂体束的轴浆流动而至垂体后叶，贮存于后叶的神经末梢颗粒中，为 8 个氨基酸组成的多肽。

催产素具有刺激乳腺及子宫的双重作用：对乳腺有促进乳腺射乳的作用，作用于乳腺内平滑肌，使其收缩产生压力，从而使乳汁排出

腺泡进入导管和乳窦。吸吮时所产生的负压克服乳头括约肌阻力，使乳汁流出。对非孕子宫作用小，对妊娠子宫，在妊娠末期对其敏感。雌激素可增加子宫对催产素的敏感性，而孕激素作用则相反。由于催产素可使子宫强烈收缩，可减少产后流血。临床上常用于产后止血。刺激催产素分泌的有效刺激为吸吮乳头和扩张子宫颈，为反射活动，神经冲动由外周神经传入中枢神经系统，兴奋下丘脑室旁核，引起催产素释放。

此前，以色列科学家的一项最新研究发现，一种大脑垂体分泌催产素(Oxytocin)影响着人类中母子紧密关系的程度。

哺乳动物研究表明，催产素由性交引起，它对母爱和养育感情的发展至关重要，并影响着母子感情的维持。缺乏催产素的母狗对幼崽漠不关心，舔幼崽和自我修饰也较少。这些发现表明了催产素在母子联系... 人类之间能够形成持久的联系，母子之间就更是如此了。从进化角度看，养育子女、让他们得到幸福安乐对哺乳动物母亲们是最为重要的。不过，母子之间的联系似乎也是有差异的，一些母亲比另一些可能更加富有母性。

研究人员分别测定了 62 位女性怀孕后第一个 90 天、第三个 90 天以及产后第一个月血浆中的催产素浓度。此外，他们还观察了这



些母亲与孩子的交互作用情况,并从凝视、情感影响、抚摸和发声四个方面评价了她们的母性程度以及母子间的亲密程度,并且发现初始90天催产素的水平能够决定母子间联系的紧密程度。此外,怀孕期间和产后具有较高催产素水平的母亲也会有更多的母性行为,这些行

为会支持母亲与孩子间专有关系的形成,比如对婴儿唱特殊的歌,以特殊的方式给婴儿洗澡和哺乳。研究同时表明,这些催产素水平高的母亲会十分关心孩子的安全性,尤其当他们在身边时。(生物通雪花)

上接 P12 页

Rad54 蛋白还可能在同源重组的较后阶段起作用,即在 Rad51 之后起作用。

新的 DNA 分支迁移活动与 Rad54 蛋白质的这种晚期的同源重组功能相一致。这项研

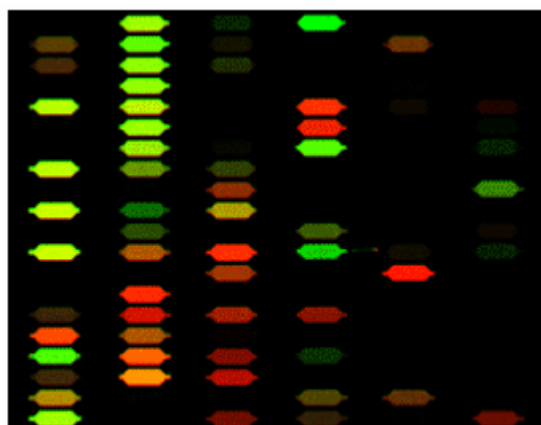
究对真核细胞的 Holliday 结构的分支迁移有了新的了解,确定出了这个复杂过程中的一个新的关键蛋白质。这些发现将有助于人们了解染色体重组过程以及与染色体重组过程有关的疾病。



联川生物 全球首推

Sanger miRBase V10.0 版 microRNA 微阵列检测服务

为了更好地向国内客户提供高品质的 microRNA 微阵列芯片服务,同时回馈客户一直以来对联川生物的支持与帮助,我们特别推出秋季特惠 microRNA 微阵列芯片服务——您将以特惠价格亲身体会由联川生物首家提供的涵盖 Sanger miRBase 最新版本 V10.0 数据库的 microRNA 微阵列芯片服务。您只需提供保存完好的样本给我们,本公司的微阵列技术服务人员就可为您完成整个实验操作,向您提供一份包含完整数据、图表及分析的实验报告。您可即刻使用报告中的信息而无需作进一步的数据处理。



除提供标准 microRNA 微阵列芯片服务外,我们也为您提供完全个性化的服务,按照您的需求提供定制 microRNA 微阵列芯片服务,而服务价格同样会让您感到惊喜!

秋季特惠服务活动火热进行中!

本特价活动适用范围与特惠服务活动时间:

客户与本公司洽谈实验服务合同时提供本特惠服务申请表,并于2007年12月31日前签订实验服务合同及完成50%的预付款支付。

特惠服务活动时间:即日起至2007年12月31日止。

地址:杭州经济技术开发区6号大街452号高科技孵化园

Tel: 0571-56617611

Fax: 0571-56617600

E-mail: [service@lc-bio.com](mailto:service@lc-bio.com)

网址: [www.lc-bio.com](http://www.lc-bio.com) (China)

[www.lcsciences.com](http://www.lcsciences.com) (U.S.A)



# BCM: “负负得正”的基因

生物通报道：来自贝勒医学院（Baylor College of Medicine，BCM）的研究人员在《Nature Neuroscience》杂志上发表了有关内在的两个基因突变（引发癫痫症）也许会“负负得正”的研究成果。

BCM 神经生物学与分子人类遗传学教授 Jeffrey L. Noebels 博士表示，“在大脑遗传学中，两个错误负负得正”，“我们认为这些发现在临床研究中意义重大——我们正在朝着利用基因预测神经疾病方面发展”。而且这些发现也许指出了一种通过基因靶向治疗法来治疗癫痫症得新方法。

Noebels 博士进一步解释道，“假设你在钾离子通道方面具有缺陷，那么阻断某些钙离子通道得药物也许就会有效”，Noebels 带领在其实验室进行博士后研究的 Ed Glasscock 博士通过缺陷型小鼠实验证明了以上观点。

其中一个突变来自 **Kcna1** 基因，这个基因的作用是管理钾离子在细胞内的进出，**Kcna1** 基因突变会影响大脑颞叶（temporal lobe，一个处理视觉，听觉等的区域），引起严重的痉挛反应（seizures），甚至引起幼鼠的突然死亡。

另一个突变则与一个钙离子通道基因（**Cacna1a**）相关，这种突变会引起与失神癫痫（absence epilepsy）有关的一种特殊 seizure，当患上这种 seizure 的时候，患者也许就会凝视着远方，而不会出现癫痫通常出现的抽搐或颤动。

当幼鼠中同时出现这两种突变，幼鼠会表现出 seizures 现象急剧的减少，并且也不会出现与钾离子通道有关的突然致死现象。

Noebels 认为，“不同于同时筛选一个‘坏’基因，这也许对于绘制许多，甚至所有的基因的整体图谱来说是必需的，因为这能精确评估譬如癫痫之类的许多常见失序症中任何单基因缺陷的真实遗传风险。幸运的是，由于神经基因组学（neurogenomics）领域的快速技术进步，个体病人很快就能获得这种背景信息资料了。”

许多不同的基因会引起痉挛失序症（seizure disorders），在一些情况下，这些基因编码离子通道，之前的研究表面这些基因的复合会导致癫痫症状更加严重，但是这一研究证明某些基因的拼合也许会抑制症状的发生，就像是“断路”了，Noebels 表示。（生物通：张迪）

原文检索：ature Neuroscience Published online: 4 November 2007 | doi:10.1038/nn1999 Masking epilepsy by combining two epilepsy genes

## 『Abstract』

### 什么是癫痫？

癫痫是由大脑神经细胞异常放电引起的突然性、反复性和短暂性的大脑功能失调，可以表现为运动、感觉、意识、精神等多方面的功能障碍。

无论在发达国家还是在发展中国家，癫痫都是一项重要的公共卫生问题。国际卫生组织估计全世界大约有五千万癫痫患者。



# 《Cell》：通往新癌症疗法的路上

生物通报道：癌症是男性死亡的主要原因。根据目前的趋势，研究人员预测到 2010 年，癌症也将成为女性死亡的第一原因。来自 Katholieke 大学 VIB 的研究人员与德国生物技术公司 ThromboGenics 研究了抗 PLGF（胎盘生长因子）的抗癌活性。这种物质似乎蛋白能成功治疗目前治疗失败的种类，而且还能提高现有化疗药物的效果，并且没有其他副作用。这项重要发现在最新一期刊（11 月 2 日）的 Cell 杂志上公布。

近年来，VIB 的研究人员一直在研究一种新的血管形成生长因子——胎盘生长因子（PLGF）。和奇怪的是，PLGF 只刺激癌症和其他疾病中血管的形成过程，而不是胎儿、小孩子或妊娠妇女的血管形成。

VIB 的研究人员研究了抗 PLGF 用于肿瘤治疗的可能性，即阻碍 PLGF 的活动。抗 PLGF 方法不但能够改善化疗和目前抗血管新成药物的效果，而且还抑制对现有药物产生抗性的肿瘤的生长和转移。

胎盘生长因子（placental growth factor, PIGF）是血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor, VEGF）家族中的一员。它最早于 1991 年由 Maglione 等从人的胎盘 cDNA 文库中分离纯化而得，PIGF 通过特异性地结合于 VEGFR-1/Flt-1 而产生生物学活性。一些慢性缺血性疾病如动脉粥样硬化、糖尿病的末梢微循环病变和眼底病变等均与血管新生有关，PIGF 和 Flt-1 可以使局部缺血的组织血运重建。

胎盘生长因子(PIGF) 是糖基化的同二聚体，55~60 kDa，二硫键连接，最初是从胎盘 cDNA 文库中克隆出来，和 VEGF 有 50% 的同源性。属于 PDGF/VEGF 相关血管生长因子，含 8 个保守的半胱氨酸。因不同剪切，

可以产生三种 PIGF，即人 PIGF-1,2 和 3，分别为 149, 170, 221 个氨基酸。在小鼠体内，只存在 PIGF-2。除了同二聚体，PIGF 还可与 VEGF-A 形成异二聚体。表达 PIGF 的包括绒毛期的细胞滋养层细胞，蜕膜细胞，甲状腺上皮，角化细胞，内皮细胞和黑色素瘤细胞。胎盘生长因子相对于 VEGF 表达来说，通常胎盘组织表达高水平的 PIGF，特别是 PIGF-2。VEGF R1/Flt-1 为 PIGF 的受体。PIGF 与 VEGF 的二聚体则可激活 VEGF R2。

PLGF 可诱导单核细胞活化，刺激单核细胞迁移，上调外周单个核细胞 VEGF 的产生，诱导单核细胞和血管内皮分泌组织因子和促凝血活性。作为 VEGF 家族成员，它可通过形成 PIGF-VEGF 二聚体，并竞争性与 VEGF R1 和肝素结合，调节 VEGF 活性。并且也有它可作为内皮细胞生长因子和趋化因子的报道。PIGF 可由胚胎滋养层分泌，保护滋养层因生长因子下降引起的滋养层细胞凋亡。

缺氧可诱导小鼠胚胎成纤维细胞和 NIH 3T3 细胞产生 PIGF，并且当有癌基因 Ras 存在时，PIGF 产生增多，这种作用是由转录因子 MTF-1 介导的。该发现暗示着 PIGF 可能是肿瘤微环境中一种重要前血管源性因子。

绒毛膜癌细胞 BeWo 在用 PIGF-1 处理后



表现为增殖明显加快，而乳腺癌细胞 CG-5 则未受影响。实验表明该细胞表达有 Flt-1，并且 NO, cAMP 都表现为增高，而 cGMP 未有明显改变。NO, cAMP 可能是 Flt-1 激活后的下游效应物。

去年，比利时研究人员曾报道说，新发现一种胎盘生长因子能促进骨骼断裂部位的愈合，在此基础上有望研制出治疗骨折的新药。有关论文发表在《临床研究杂志》上。研究

人员培育出体内缺少这种蛋白质的实验鼠，在它们 11 个星期大时将其胫骨折断。与普通实验鼠相比，这些实验鼠的骨骼伤口处炎症细胞更少，血管再生也不活跃。骨折后 13 天，7 只普通实验鼠都在平稳地恢复，骨骼断裂处开始融合。但所有 9 只体内缺少胎盘生长因子的实验鼠中，有 6 只未能形成连续的骨骼，断裂处出现的是一团不牢固的软骨。（生物通雪花）

### 上接 P15 页

根据国内最新的统计数字，癫痫的发病率为每年 28.8/10 万，患病率为 6.8‰，所以我国约有 900 万癫痫患者，活动性癫痫患者 600 万，其中难治性癫痫占 20%-30%（约 120-130 万）。

### 如何预防癫痫？

癫痫的预防是相对的，比如小孩子发高

烧，出现高热惊厥，而我们知道，小孩子发烧惊厥容易抽搐、感染，此时就要尽量控制，不让患儿再发烧，以防止出现癫痫。此外，病人已经明确患了癫痫，那么要及时治疗，帮助病人度过脑发育期间的异常放电。

临床实践证明，约 70%~80% 的病人用药物都能得到有效控制。这些都是预防癫痫进一步发展的有效手段。

GE Healthcare

Amersham ECL Plex-

荧光检测定量精确、多重测定

Amersham ECL Advance-

高灵敏度及降低昂贵抗体的使用量

Amersham ECL Plus-

唯一可同时进行化学发光和荧光检测

唯一可同时进行化学发光和荧光检测

Amersham ECL-

具开创性，并且第一个使用的化学发光蛋白印迹试剂

秋季

5折

特惠

2007年(10月1日-11月30日)

ECL蛋白印迹

—请选用真正唯一的Amersham ECL



# 家猫基因组测序完成

生物通报道：在新一期的《Genome Research》杂志上发表的一篇文章公布了对家猫(*Felis catus*)基因组的首个装配、注释和比较分析详细信息。

研究人员对一只四岁大的名叫 Cinnamon 的阿比西尼亚猫 (Abyssinian cat) 的 DNA 进行了测序。之所以选取这种猫是因为对它的血统很了解,能够追溯到几代前的瑞典。

Cinnamon 是目前利用 “light” (双重) 基因组序列覆盖 (genome sequence coverage) 方法分析的几种哺乳动物中的一种。为了弄清 Cinnamon 的原始序列数据的意义,来自多个研究中心的研究人员进行合作,并使用了之前完成测序的哺乳动物基因组信息以及之前猫基因定位研究的成果。在此分析过程中,他们发现 Cinnamon 的序列包括了猫科动物基因组的真染色体(含有基因的染色质部分)的 65%

猫基因组和 6 种近期完成基因组测序的哺乳动物(人、黑猩猩、小鼠、大鼠、狗和牛)直接的相似性帮助研究人员在猫基因组中鉴定出 20285 个可能的基因。这种比较还揭示出了数百个染色体重排序列。

研究人员认为基因组序列分析必定能够有助于家猫的健康。由于和人类的密切关系,家猫还能够作为人类疾病的非常好的模型,这也是美国国家人类基因组研究所三年前通过了猫基因组测序计划的其中一个原因。

利用猫基因组序列数据,研究人员鉴定出了数百个基因组变体(单核苷酸多态性 SNP、DIP 和 STRs),这些发现可用于确定

常见遗传疾病的遗传基础。

研究人员已经利用这些变异来鉴定猫色素性视网膜炎的致病基因,该结果已经在 2007 年 5、6 月的 Journal of Heredity 杂志上公布。这些变异还将能用于身世检测、法医鉴定和进化研究。此外,研究人员还分析了这个基因组的 microRNA 特征。(生物通雪花)

相关新闻:

[《科学》：毛发助科学家测定猛犸基因序列](#)

丹麦和美国的科学家近日利用来自俄罗斯冻土带的十头猛犸 (*Mammuthus primigenius*) 毛发标本,成功拼凑出了猛犸的线粒体 DNA 序列。这一成果显示了毛发惊人的抗降解能力,以及它在获得远古 DNA 片段方面出人意料的有用性。相关论文发表在 9 月 28 日的《科学》杂志上。

领导最新研究的是丹麦哥本哈根大学的 Tom Gilbert 以及美国宾夕法尼亚州立大学的 Webb Miller 和 Stephan Schuster。研究小组从现已灭绝的西伯利亚猛犸毛发中萃取了 DNA,利用“猎枪”(shotgun)技术(即先将 DNA 标本破坏成碎片,然后利用计算机程序使其重新聚合),研究人员拼凑了猛犸完整的线粒体 DNA 序列。

早在 2005 年,就有科学家对猛犸进行过基因测序。不过,此次针对十个个体的测序规模要更大,它令已经测定线粒体基因组的灭绝

动物的数量增加了一倍多,大大丰富了灭绝动物的遗传数据库。

### 《科学》：象皮病寄生虫的基因组

生物学家制作了第一个寄生蛔虫的基因组草图,它将成为研究象皮病的药物和疫苗的重要工具。**Elodie Ghedin** 和同事测出了马来丝虫(*Brugia malayi*)的大部分基因组,这个线虫给热带地区发展中国家中上百万人带来患象皮病的威胁,该寄生虫妨碍被感染人的淋巴系统,导致组织肿胀和皮肤变厚。现在,科学家能比较马来丝虫的基因组与独立生存的蛔虫、以及模式生物美丽线虫的基因组,来识别与寄生有关的基因。马来丝虫有一个复杂的生命周期,涉及到两个宿主。这两个宿主的基因组也已测出,研究人员也许能发现寄生虫在这些宿主身上的薄弱环节,从而找到控制该疾病的全新靶标。 **Science**

象皮病(淋巴丝虫病)是一种蚊媒疾病,它是由包括马来丝虫在内的几种线虫导致的。根据世界卫生组织的数据,全世界有 1 亿人受到该病影响,大部分生活在发展中国家。一旦感染更该病,丝虫就会生活在人体的淋巴结中,导致肢体和外生殖器肿胀和畸形。

尽管现有疗法很有效,但是它们的疗程很长,而患者坚持服药的比率通常较低,这就降低了这些疗法的效果。治疗药物有毒副作用,也有耐药性病例的报道,这凸显了对新疗法的需求。

这组科学家发现了马来丝虫的 1.15 万个编码蛋白质的基因。该研究的第一作者、美国匹兹堡医学院的 **Elodie Ghedin** 告诉本网站说,他们的研究组在比较马来丝虫和此前测出的该寄生虫的一些基因序列时吃惊地发现,大约有 20%到 30%的序列不匹配。由这些新发

现的基因编码而成的蛋白质似乎与已知的免疫调节蛋白(免疫系统的调节因子)类似,这表明它们参与了让宿主的免疫系统失效的工作,从而确保寄生虫不被发现。

### 《自然》：葡萄的基因组测序完成

法国科学家宣布,他们完整地测定出一种酿酒葡萄的基因组。这是科学界首次成功破译水果类植物的基因组。尽管研究结果不会增加葡萄酒酿造的神秘性,但科学家们相信,它有利于改进葡萄酒香味,以及提高葡萄对疾病的抵抗力。

葡萄是迄今为止第四种基因组得到完整破译的开花植物。其他已破译的三种植物基因组分别是拟南芥(2000 年破译)、水稻(2002 年破译)和杨树(2006 年破译)。拟南芥和水稻分别具有重要的科研价值和经济价值。拟南芥是一种深受生物学家偏爱的模式植物。杨树是一种在全世界广为种植的树木。由于生长迅速,而且基因很容易操纵,植物学家也把杨树作为一种模式植物加以研究。

来自法国和意大利的数十位研究人员参与了这项研究,相关论文 8 月 26 日在线发表于《自然》杂志。有消息说,加拿大、西班牙的科学家也在从事葡萄基因组的测序工作。不过,法国最终捍卫了“葡萄酒之都”的荣誉——法国科学家领导的测序工作率先完成。

法意两国科学家选择了酿造葡萄酒的主要原料——黑皮诺葡萄作为测序的对象。黑皮诺葡萄是法国北部著名的勃艮第酿酒区的标志性品种,几乎所有的葡萄酒都是由它酿造而成的,选择黑皮诺葡萄还因为它具有近亲繁殖的基因类型,比较容易排序。

研究人员先将黑皮诺葡萄的 DNA 分割成几百万个小的片段,再分别进行测序,最后利

下转 P21 页





# 华裔教授《自然》子刊： 最新技术解开奥秘

生物通报: 来自伊利诺斯大学厄巴纳香槟分校(University of Illinois at Urbana-Champaign), 霍德华休斯医学院, 以及埃默里大学(Emory University)的研究人员利用一种高度敏感的技术发现了一种铅特异性脱氧核酶(a lead-specific DNAzyme)利用“锁-钥匙”模式反应的机制, 这不同于其它的脱氧核酶, 由于存在锌离子或镁离子, 同样的脱氧核酶利用的是“诱导契合(induced fit)”模式机制, 这与核酶(ribozyme)是相似的。

这一研究成果公布在《Nature Chemical Biology》杂志上, 文章的通讯作者是伊利诺斯大学的鲁毅(Yi Lu, 音译)教授, 以及 HHMI 知名的研究员 Taekjip Ha 教授, 前者早年毕业于北京大学, 主要研究兴趣在于研究蛋白和核酸分子作用过程中金属离子的功能(简介见下)。

Yi Lu 表示, “锁-钥匙机制解释了为什么这种铅特异性的脱氧核酶能进行如此灵敏和选择性强的应答”, “加深结构改变和反应之间关系的了解对于我们进一步研究脱氧核酶如何工作的, 以及设计更有效的感应器来说都是十分重要的。”

早在 20 世纪 80 年代, 科学家们发现 RNA 分子能催化酶反应, 并将之命名为核酶, 之后又发现 DNA 也可以作为一种酶作用, 命名为脱氧核酶(deoxyribozyme 或 DNAzyme), 其发现是人类对于酶的认识的又一次重大飞跃。

核酸类酶(nucleic acid enzymes)仅仅只有四种核苷分子——不用于蛋白有 20 种, 因此也许需要补充一些辅助分子

(cofactors), 其中金属离子就是一种天然的选择, 而且实际上大部分核酸类酶都需要金属离子辅助生理条件下的酶反应(因此也称为金属酶)。

金属酶利用不同的模式行使功能, 包括金属依赖性结构改变(诱导契合模式), 以及另外一些不需要结构改变的模式(锁-钥匙模式)。相反, 大部分核酶都需要在酶反应之前发生结构改变。

研究人员在一种称为单分子荧光共振能量转移(single-molecule fluorescence resonance energy, 介绍见下)技术的基础上在靶标分子上加上了两种染料分子——绿色和红色, 然后用激光激活, 这样一些能量从绿色染料转移到了红色染料, 转移的多少依赖于两种染料的距离。

Ha 表示, “两者强度的改变比例就说明了两种染料分子的相对运动”, “通过模拟这两种染料的明亮程度, 我们就可以在纳米精度上检测结构改变了。”

这样研究人员发现, 当存在锌离子或镁离子的时候, 脱氧核酶就会发生结构改变, 之后即进行剪切反应(类似于许多蛋白和核酶), 但是当存在铅的时候, 这种剪切反应就不需要结构变化。

Lu 表示, “这证明了铅特异性酶利用的是锁-钥匙反应机制”, “这种脱氧核酶好像预先接受了铅。”

“我们认为这一研究结果说明更快更灵敏的感应器是属于锁-钥匙模式机制的”，“下一步我们将需要其它采用锁-钥匙模式的金属离子特异性脱氧核酶，而且，我们希望研究金属绑定点的结构细节，以及观测在催化过程中，它们是如何变化的。”（生物通：张迪）

原文检索：Nature Chemical Biology

Published online: 28 October 2007 |

doi:10.1038/nchembio.2007.45 Dissecting metal ion-dependent folding and catalysis of a single DNAzyme [Abstract]

荧光共振能量转移(FRET)是用于对生物大分子之间相互作用定性、定量检测的一种有效方法。根据所基于的荧光显微镜配置不同而有不同的应用侧重，可在溶液，细胞悬液，多细胞，单细胞，细胞膜，细胞器等不同层次对生物大分子间的相互作用距离，动力学特性等进行研究。

一般系综测量结果表示的是大量由一种

或多种对象组成的一个整体所表现出来的平均效应和平均值。这一平均效应掩盖了许多特殊的信息。而这些特殊的信息有时是非常重要的，尤其在研究具有非均匀特性的凝聚相物质和生物大分子结构时。

而相比之下，单分子检测就可做到对体系中单个分子的行为进行研究，可以得到在特定时刻，特定分子的特殊位置和行为，因为在某一时刻，集团中的任何成员只能处于一种状态。将此再与时间相关，还可得到单个分子的行为的分布状况。这样我们就可以同时得到所研究的对象的整体行为和个体行为了，然后将数据综合处理，得到更为全面的信息。

单分子检测技术有别于与一般的常规检测技术，观测到的是单个分子的个体行为，而不单分子检测技术是大量分子的综合平均效应。近年来随着相关学科的技术进步，单分子研究已经在从分子生物学到细胞生物学等生命科学领域有了迅速的发展和应用。

上接 P19 页

用计算机程序将所有的序列拼接起来，得到一个完整的基因组序列(含有的基因数超过 3000 个)。（生物通雪花）



提供创新性产品和服务的  
国际领袖公司

联系我们：

总部：

全国免费咨询服务电话：800-810-1927

电话：010-80726868 转 8124

传真：010-80726782

地址：北京市昌平区生命科学园路 18 号

邮编：102206

Email: [sales@capitalbio.com](mailto:sales@capitalbio.com)

网址: <http://www.capitalbio.com>

上海：

电话：021-54591166 / 54904981

传真：021-54900302

地址：上海市徐汇区漕溪北路41号汇嘉大厦21楼F室

邮编：200030

晶芯® 荧光定量PCR系列通用试

剂盒 买一赠一

购买产品，就有机会获得

4G 大容量U盘

# 2007 最佳学术研究院排名



每年 The Scientists 杂志都要进行学术环境评选,挑选出 40 个最佳的学术研究院,看看你在其中吗,或者是否你正打算去? 而且更加值得关注的是: 到底什么使得这些研究院能出类拔萃?

生物通报道:学术环境应该说对于科学家的成长有着至关重要的影响因素,选择一个适合自己的学术研究氛围也当然成为了每一位科学家, 研究人员梦寐以求的事。The Scientists 杂志每年都要进行三大工作地点的评选, 包括最佳学术研究院, 博士后最佳工作场所, 企业最佳工作场所, 11 月新鲜出炉了

最佳学术研究院排名。

今年全美优秀学术研究院的前三甲分别被三种不同类型的研究院占据: 麻省总医院 (医学类), 美国国家癌症研究所 (政府机构) 和克莱姆森大学 (Clemson University) (学术类)。

Top 15 US Academic Institutions

Rank in the US in 2007	Institution	Type	No. of Full-Time Life Science Researchers	Federal Funding <sup>1</sup> (in millions of dollars)	Papers Published <sup>2,3</sup> in the Life Sciences	Citations per <sup>2,3</sup> Paper
1	Massachusetts General Hospital, Boston	Academic affiliate	2,100	327.2	15,007	29.34
2	National Cancer Institute-Frederick, Frederick, MD	Government	2,520	370.0	-	-
3	Clemson University, Clemson, SC	Academic	77	3.5	3,806	7.41
4	Purdue University, West Lafayette, IN	Academic	756	58.7	7,944	12.13
5	Trudeau Institute, Saranac Lake, NY	Institute	39	11.7	291	29.38
6	St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, TN	Private	500	60.7	4,247	27.87
7	The J. David Gladstone Institutes, San Francisco	Academic affiliate	210	26.7	-	-
8	University of Nebraska - Lincoln	Academic	205	22.4	11,207	12.21
9	University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas	Academic affiliate	1,771	220.7	139	18.61
10	Beth Israel Deaconess Medical Center, Boston	Academic affiliate	1,600	122.4	5,987	27.37
11	University of Texas M.D. Anderson Cancer Center, Houston	Academic affiliate	530	182.9	531	20.29
12	Duke University, Durham, NC	Academic	1,757	341.3	23,452	24.22
13	Wadsworth Center, Albany, NY	Government	151	31.0	-	-
14	Georgia Institute of Technology, Atlanta	Academic	194	7.0	1,936	13.89
15	Mayo Clinic, Rochester, MN	Private	329	270.0	24,971	17.48



从全球范围来看,今年是比利时第一次成为了进行学术研究的最佳环境国家,其在2004 到 2006 年排名一直下降(从第四名下

降到了第六名),而印度则是这两年新闯入这一排名的亚洲国家,打败了重量级的国家:英国和瑞典,成为了第六名。

### Top 10 International Academic Institutions

Rank in 2007	Institution	Type	No. of Full-Time Life Science Researchers	Federal Funding <sup>1</sup> (in millions of dollars)**	Papers Published <sup>2,3</sup> in the Life Sciences	Citations per <sup>2,3</sup> Paper
1	Dalhousie University, Halifax, Canada	Academic	576	\$30 CAD (\$30.4 USD)	7,192	12.33
2	University of Nottingham, UK	Academic	235	not available	8,615	14.42
3	University of Helsinki, Finland	Academic	not available	not available	20,359	16.02
4	University of Dundee, UK	Academic	236	£2.4*** (\$4.8 USD)	7,148	20.47
5	University of Alberta, Edmonton, Canada	Academic	1,156	\$82 CAD (\$83.2 USD)	13,812	14.32
6	Ghent University, Belgium	Academic	1,249	€58.8*** (\$82.6 USD)	3,816	2.30
7	University College London, UK	Academic	655	£31.3 (\$63.3 USD)	19,292	20.24
8	ETH, Zurich, Switzerland	Academic	2,256	not available	-	-
9	Utrecht University, The Netherlands	Academic	1,193	€165 (\$231.9 USD)	17,647	15.24
10	University of Oxford, UK	Academic	not available	£45*** (\$91.6 USD)	17,660	24.33

### Best Countries for Academic Research

Country	2007	2006	2005
Belgium	1	5	4
United States	2	3	2
Canada	3	1	1
Switzerland	4	-	3
Australia	5	10	-
India	6	4	-
The Netherlands	7	8	6
United Kingdom	8	7	10
Israel	9	2	7
Sweden	10	6	5
Brazil	11	-	-
Germany	12	11	12
France	13	9	11
Mexico	14	-	-
Italy	15	12	15

(生物通: 张迪)



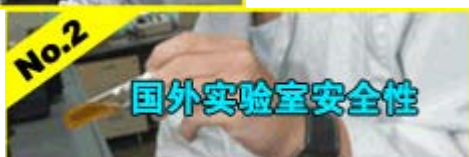
关注生命  
关注实验室安全性

主办单位:  生物通  
www.ebiotrade.com

《遗传》  
《中国生物工程杂志》  
《生命世界》

媒体支持: 腾讯科技  
协办单位: **ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

 Gene Company Limited  
基因有限公司





# 如何选择生命科学研究院？

## ——07 最佳学术研究院分析报告

生物通报道：Charles Wood在他的科学研究生涯中辗转了许多所研究机构：首先进行了美国雅培公司（Abbott Laboratories），成为了一名科学研究员，之后他希望进行更多学术方面的研究，因此他转入到了另外两所大学中，但是发现没有一所大学符合他的期望，最终他决定落户在位于林肯的内布拉斯加州大学（University of Nebraska），Wood对这所大学的评价是相当肯定的，他认为在这所大学中一起工作的人不会“太自我，极其敏感（prima donnas），不善交流”，这他在其它研究院中都遇到过。而他的选择也与今年的[2007 最佳学术研究院排名](#)相一致——内布拉斯加州大学在今年的排名中有了极大的进步，从去年的 28 位上升到了第 8 位。

每年 The Scientists 杂志都要进行学术环境评选，挑选出 40 个最佳的全美学术研究院，10 个全球研究机构，以及各国在科研环境方面的排名，那么是什么影响了研究人员选择学术研究机构呢？

### Top 40 US Academic Institutions

Rank in 2007	Rank in 2006	Name/Location	Strengths		Weaknesses	
1	-	Massachusetts General Hospital Boston, MA	Peers	Job Satisfaction	Pay	Teaching & Mentoring
2	-	National Cancer Institute-Frederick Frederick, MD	Research Resources	Infrastructure & Environment	Teaching & Mentoring	Tenure
3	-	Clemson University Clemson, SC	Pay	Teaching & Mentoring	Research Resources	Tenure
4	25	Purdue University West Lafayette, IN	Tenure	Teaching & Mentoring	Infrastructure & Environment	Research Resources
5	6	Trudeau Institute Saranac Lake, NY	Management & Policies	Pay	Tenure	Teaching & Mentoring
6	1	St. Jude Children's Research Hospital Memphis, TN	Research Resources	Pay	Tenure	Teaching & Mentoring
7	2	The J. David Gladstone Institutes San Francisco, CA	Teaching & Mentoring	Management & Policies	Job Satisfaction	Tenure
8	24	University of Nebraska, Lincoln Lincoln, NE	Teaching & Mentoring	Pay	Peers	Tenure
9	29	University of Texas Southwestern Medical Center Dallas, TX	Peers	Research Resources	Infrastructure & Environment	Tenure
10	-	Beth Israel Deaconess Medical Center Boston, MA	Teaching & Mentoring	Pay	Tenure	Research Resources
11	-	University of Texas M.D. Anderson Cancer Center Houston, TX	Management & Policies	Tenure	Peers	Job Satisfaction
12	-	Duke University Durham, NC	Tenure	Infrastructure & Environment	Teaching & Mentoring	Research Resources
13	-	Wadsworth Center Albany, NY	Tenure	Research Resources	Peers	Pay
14	11	Georgia Institute of Technology Atlanta, GA	Job Satisfaction	Tenure	Pay	Infrastructure & Environment
15	-	Mayo Clinic Rochester, MN	Research Resources	Teaching & Mentoring	Pay	Job Satisfaction
16	7	Michigan State University East Lansing, MI	Pay	Tenure	Peers	Management & Policies
17	-	Case Western Reserve University Cleveland, OH	Job Satisfaction	Peers	Research Resources	Pay
18	-	Zeenaat Qureshi Stroke Research Center Minneapolis, MN	Management & Policies	Teaching & Mentoring	Infrastructure & Environment	Peers



19	28	University of Wisconsin, Madison Madison, WI	Peers	Research Resources	Pay	Job Satisfaction
20	15	Donald Danforth Plant Science Center St. Louis, MO	Job Satisfaction	Infrastructure & Environment	Research Resources	Peers
21	-	Drexel University Philadelphia, PA	Tenure	Job Satisfaction	Research Resources	Infrastructure & Environment
22	-	National Cancer Institute Bethesda, MD	Research Resources	Teaching & Mentoring	Tenure	Job Satisfaction
23	33	University of Missouri-Columbia Columbia, MO	Job Satisfaction	Teaching & Mentoring	Pay	Research Resources
24	-	Indiana University-Purdue University Indianapolis Indianapolis, IN	Tenure	Management & Policies	Job Satisfaction	Peers
25	3	The Ohio State University Columbus, OH	Tenure	Job Satisfaction	Infrastructure & Environment	Research Resources
26	38	The University of Iowa Iowa City, IA	Peers	Job Satisfaction	Management & Policies	Tenure
27	-	The University of Toledo Toledo, OH	Pay	Infrastructure & Environment	Peers	Job Satisfaction
28	32	USDA National Center for Agricultural Utilization Research Peoria, IL	Pay	Tenure	Peers	Teaching & Mentoring
29	20	Institute for Systems Biology Seattle, WA	Infrastructure & Environment	Management & Policies	Tenure	Research Resources
30	-	University of Oklahoma Health Sciences Center Oklahoma City, OK	Infrastructure & Environment	Research Resources	Peers	Pay
31	-	Louisiana State University Health Sciences Center New Orleans, LA	Job Satisfaction	Teaching & Mentoring	Peers	Infrastructure & Environment
32	-	University of Minnesota Twin Cities Minneapolis, MN	Job Satisfaction	Infrastructure & Environment	Pay	Tenure
33	-	National Jewish Medical & Research Center Denver, CO	Peers	Infrastructure & Environment	Tenure	Teaching & Mentoring
34	-	Dana-Farber Cancer Institute Boston, MA	Research Resources	Peers	Tenure	Job Satisfaction
35	9	Fox Chase Cancer Center Philadelphia, PA	Management & Policies	Infrastructure & Environment	Pay	Job Satisfaction
36	36	University of Illinois at Urbana-Champaign Urbana, IL	Tenure	Research Resources	Infrastructure & Environment	Peers
37	-	University of Rochester Rochester, NY	Peers	Management & Policies	Infrastructure & Environment	Teaching & Mentoring
38	-	Virginia Polytechnic Institute & State University Blacksburg, VA	Peers	Tenure	Management & Policies	Research Resources
39	-	University of Cincinnati Cincinnati, OH	Tenure	Job Satisfaction	Teaching & Mentoring	Management & Policies
40	-	Buck Institute for Age Research Novato, CA	Management & Policies	Pay	Tenure	Research Resources

首先来看一下今年荣登榜首的研究机构，麻省总医院（Massachusetts General Hospital）在生命科学研究方面的预算是 3 亿多美元（\$327.2 million），这是譬如工作满意度，同行研究人员（peers），管理和政策，下部组织，环境，以及研究资源这些影响因素中最最重要的一个标志。

另外工作资源在影响因素中也排在了第三位，正如上面提到的例子，内布拉斯加州大学提供了 Wood 建立自己项目需要的资源，他的病毒学中心，成立于 2000 年，目前已拥有了 4 名研究人员，最近他还打算再招募 3 名。到明年 3 月 Wood 计划组成一个由 12 名病毒学研究人员，及其它领域的 2 名研究人

员组成的研究团队。有了学校的支持，他建立了一个研究计划，由 20 名他的学生针对 HIV 亚族群 C 的传递进行研究。

排名	影响因素
1	Job satisfaction
2	Peers
3	Management and Policies
4	Infrastructure and Environment
5	Research Resources
6	Pay
7	Tenure



在排名中,前三甲分别被三种不同类型的研究院占据:麻省总医院(医学类),美国国家癌症研究所(政府机构)和克莱姆森大学(Clemson University)(学术类)。

Andrea Cooper 是一个已经在每种类型的研究机构中工作过的研究人员,她了解这三种机构的优势和缺点,她最初在一家政府实验室工作,之后在科罗拉多州立大学(Colorado State University)进行了几年时间的研究,2002年加入到了排名中第五位的 Trudeau 研究所(美国一家独立的非盈利生物医学研究机构)。教学从来都不是 Cooper 的强项,她发现大学的管理行政责任分散了她实验研究的精力。在 Trudeau 研究所,她进行针对 Mycobacterium tuberculosis 的研究,“现在我能用 95%的时间来作研究了。”

当 Mary Carrington 从一家大学转入了美国国家癌症研究院的人类遗传学组,成为了首席研究员之后,她的文章数量有了大幅度的增加。她表示,在这种政府运作的实验室,“我不用整天忙着写 R01 申请书”,在杜克大学,

她平均每年发 5 篇文章,现在这个数字增加到了 14 篇。

一名生物化学教授 Paul Muchowski 也表示,虽然他在大学里也工作愉快,但是他不能拒绝来自格莱斯通研究院(J. David Gladstone Institutes)的邀请,他说,“在大学里有许多事情要浪费你的时间。”

另外一个医学机构和研究医院的优势就在于能够完成从实验到临床

(bench-to-bedside)的流水线作业,一些非赢利的机构和大学常常不能顺利进行这一步骤。Michael Dyer 认为他就是一个单纯的视网膜母细胞瘤(Retinoblastoma, Rb) 基础研究人员,对于转换到临床并不感兴趣,但是当他加入到圣犹大儿童研究医院(St. Jude Children's Research Hospital)时, Dyer 开始积极投入到帮助医生将其成果的研究项目转换到用于病患身上,“在这里,你会看到病人,你会看到家庭,你也能体会到你工作的真谛。”

(生物通:张迪)



TrypLE™ Express——trypsin的完美替代者

## TrypLE™ Express

—— trypsin的完美替代者

- 细胞损伤小—提高种板效率
- 室温保存—减少准备时间
- 快速—排除了细胞收集过程中的延滞因素,使得整个过程流水线化
- 易于使用—可以直接用于现有的程序步骤。

### Invitrogen 公司北京办事处

地址:北京市经济技术开发区

荣昌东街7号隆盛开发园203室

邮编:100176

电话:010-58085888

传真:010-67806536

### Invitrogen 上海办事处

地址:上海市虹桥路1号

港汇中心一座4010室

邮编:200030

电话:021-61452000

传真:021-64482250

### Invitrogen 广州办事处

地址:广州市海珠区新港

东路2429号海珠科技园413室

邮编:510320

电话:020-89232499

传真:020-89232487



# 上海交大等最新《细胞》 挑战原有类泛素蛋白酶理论

生物通报道: 来自美国休斯顿 11 月 1 日的消息, 德州大学安德森癌症研究中心( M.D. Anderson Cancer Center ) 心脏学系, 德州大学休斯顿健康科学中心 ( Houston Health Science Center ), 上海交通大学医学院的研究人员发现了一种能确保细胞在低氧 ( hypoxia ) 环境下生存的蛋白, 这对于癌症研究意义重大, 这一研究成果公布在 11 月 2 日的《Cell》杂志上。

文章的第一作者是来自安德森癌症研究中心和上海交大的程金科博士, 通讯作者为安德森癌症研究中心的 Edward T.H. Yeh 教授。程金科博士目前已作为领军人才从安德森癌症研究中心引进回国, 担任上海交大医学院医学科学研究院细胞信号传导研究室主任。这项成果是安德森癌症研究中心与上海交通大学医学院合作的结果。

研究人员发现了这种蛋白, 即 SENP1 ( Sentrin/SUMO-specific protease 1, 类泛素蛋白酶 1 ) 在缺氧条件下调节 hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  ( HIF1 $\alpha$ , 缺氧诱导因子 1 ) 稳定与活性的分子机制。这不仅解释了 SENP1 突变引起贫血的发生机制, 更为重要的是, 这一调控机制的发现, 为肿瘤的防治提供了新的靶标和基础。

安德森癌症研究中心首席科学家 Edward T. H. Yeh, M.D 表示, “我们相信这一生物调控途径在肿瘤发育过程中扮演着重要的角色”, “之前我们就在前列腺肿瘤中发现 SENP1 表达水平很高, 但是并不知道是什么原因, 现在通过研究我们了解了这个蛋白调控着整个缺氧应答过程, 我们认为它在其它肿瘤类型中也起到了同样的作用。”

以往的研究证明肿瘤的生长过程中会出现缺氧的情况, 因此需要更多的表达血管内皮

生长因子 ( VEGF ), 周围血管于是向肿瘤方向集中生成, 进而使获得了大量养分的肿瘤细胞得以继续增殖。而 VEGF 的表达则受到 HIF1 $\alpha$  缺氧诱导因子 1 的调节与控制。

在这篇文章中, 研究人员利用基因敲除建立了类泛素蛋白酶 1 (类泛素蛋白酶是蛋白质类泛素修饰中的一个关键调控分子) 的基因敲除小鼠模型。从这个小鼠所出现的贫血表型中, 他们发现了 SENP1 在缺氧条件下 HIF1 $\alpha$  稳定与活性的分子机制, 即肿瘤生长会伴随发生缺氧情况, 此时血管内皮生长因子 ( VEGF ) 分泌会增加, 接受到此信息后周围血管会“伸出援手”——血管向肿瘤中生成, 从而为肿瘤细胞提供大量的养分, 促进肿瘤细胞继续有恃无恐的生长。因此, 抑制肿瘤血管的生成, 成为肿瘤治疗中的一个重要的靶标。而 HIF1 $\alpha$  就是调节肿瘤血管生成的一个关键分子。

这一发表于《Cell》杂志的研究成果是 Yeh 实验室系列研究之一, 研究人员发现了这种泛素相关蛋白 Sentrin 家族成员之一, 之后他们命名为 SUMO ( Small Ubiquitin-related Modifier ) 的蛋白, 正如这些蛋白的名字含义一样, 这些蛋白能结合在细胞中其它蛋白上, 修饰其它蛋白的功能, 或者帮助蛋白迁移, 以达到生物调控的作用。由于这些蛋白结合在许多种蛋白上, 并且能修饰它们

因此被认为与泛素蛋白相似。

迄今为止已发现 SUMO 能修饰 1000 多种蛋白，其中许多都属于转录因子，Yeh 等任发现 SENP1 能将 SUMO 从蛋白上切除下来，这个动力学过程称为 SUMOylation 和 deSUMOylation，并且目前已经发现了六种 SENP 家族蛋白。

Yeh 表示，“这是第一次发现一种蛋白的 SUMOylation 过程会导致其降解”，“这与我们大家认为的理论相悖：传统理论认为 SUMO 能高便细胞的位置，但是不能降解它。现在发现 SUMO 能完成各种认为，包括泛素的功能，这极大的增加了 SUMOylation 过程的作用范围。”

同时 Yeh 也提及了这一研究对于癌症研究的帮助，“这一发现说明你可以抑制肿瘤种的 SENP1，让 SUMO 靶向 HIF1a，从而摧毁肿瘤”，“如果肿瘤不能生长，那么也就不能继续建立一个血液供应，生长并增值了。”（生物通：张迪）

## 程金科

1983 年从湖南农业大学兽医系本科毕业；

1989 年获得中国农业大学兽医学院兽医病理学硕士学位；

1997 年获得中国协和医科大学细胞生物学博士学位。

1998 至 2003 年在美国得克萨斯大学 M.D.安德森癌症中心从事博士后研究工作。

主要从事肿瘤基因治疗，蛋白质修饰与细胞信号传导的研究，尤其在通过研究蛋白质修饰来确立与肿瘤发生相关因子方面成绩卓著。先后发表论文 44 篇。

2007 年 3 月，作为领军人才被上海交通大学医学院引进回国，目前在基础医学院、医学科学院研究院工作。

原文检索：Cell, Vol 131, 584-595, 02

November 2007 SUMO-Specific Protease 1 Is

Essential for Stabilization of HIF1 $\alpha$  during Hypoxia

『[Abstract](#)』

## 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。

### 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

免费服务热线：800 820 2606

技术支持信箱：[macs@miltenyibiotec.com.cn](mailto:macs@miltenyibiotec.com.cn), [miltenyibiotec@china.com](mailto:miltenyibiotec@china.com)

公司英文网站：<http://www.miltenyibiotec.com/>

公司中文网站：<http://www.miltenyibiotec.com.cn/>

#### 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





# 2007 年度诺贝尔生理学/医学奖揭晓

生物通综合：诺贝尔奖是一年一度全球最为关注的最高科学奖项。中新网消息，2007 年度诺贝尔生理学/医学奖于 10 月 8 日下午（北京时间）揭晓，来自美国的马里奥-R-卡佩奇（Mario R. Capecchi）、奥利弗-史密斯（Oliver Smithies）和来自英国的马丁-J-伊文思（Martin J. Evans）赢得该奖项，以表彰他们在干细胞研究方面所作的贡献。他们是发明基因敲除技术的卓越科学家。

这三位科学家是因为“在涉及胚胎干细胞和哺乳动物 DNA 重组方面的一系列突破性发现”而获得这一殊荣的。这些发现导致了一种通常被人们称为“基因打靶”的强大技术。这一国际小组通过使用胚胎干细胞在老鼠身上实现了基因变化。

先前有人预测，发明基因敲除技术 (gene knockout) 的几位科学家——Mario Capecchi 和 Oliver Smithies 是肯定人选，而有无第三个人选 Martin Evans 还是未知数。这三位曾在 2001 年获 Lasker 奖，但 Nobel 奖通常在具体人选上会有小的差异。

Martin Evans, Oliver Smithies 和 Mario Capecchi 领导的几个研究小组在 1987 年到 1989 年间对胚胎干细胞中特定目标基因进行失活，培育出了第一只基因敲除小鼠。这三位科学家因为这项工作在 2001 获得了 Lasker 奖。接下来，科学家们用同样的技术又培育出了几千只基因敲除小鼠。

所谓“基因靶向”技术是指利用细胞脱氧核糖核酸 (DNA) 可与外源性 DNA 同源序列发生同源重组的性质，定向改造生物某一基因的技术。借助这一从上世纪 80 年代发展起来的技术，人们得以按照预先设计的方式对生物遗传信息进行精细改造。

有了“基因靶向”这一强大的武器，人们就可以瞄准某一特定基因，使其失去活性，进而研究该特定基因的功能。打个比方来说，使用“基因靶向”这具高精度瞄准镜，科学家们就能够精确瞄准任何一个基因，并对它进行深入研究。

尽管“基因靶向”技术刚刚诞生 20 余年，全世界的科学家已经利用该技术先后对小鼠的上万个基因进行了精确研究。根据导致人类疾病的各种基因缺陷，科学家培育了超过 500 种存在不同基因变异的小鼠，这些变异小鼠对应的人类疾病包括心血管疾病、神经病变，糖尿病和癌症等。

卡佩奇 1937 年出生在意大利，后获得美国国籍。卡佩奇 1967 年获美国哈佛大学生物物理学博士学位，他除了在霍华德·休斯医学研究所工作外，还担任犹他大学人类遗传学和生物学教授。卡佩奇在“基因靶向”技术的研究上做出了开创性工作而成名。

史密斯 1925 年出生在英国，后获得美国国籍。史密斯 1951 年获得牛津大学生物化学博士学位，如今在美国北卡罗来纳大学工作。他一开始主要进行胰岛素的研究工作，后转入分子生物学领域。在差不多 60 岁时，他开发出了可关闭活体内特定基因的技术。史密斯和卡佩奇几乎同时对“基因靶向”技术做出了奠基性贡

献,这一技术使得科学家能培育出拥有特定变异基因的小鼠。

埃文斯 1941 年出生在英国, 1963 年从剑桥大学毕业后, 进入伦敦大学学院学习, 获得解剖学和胚胎学博士学位。1978 年, 他返

回剑桥大学工作。3 年后, 他和同事从小鼠胚胎中第一次成功分离出未分化的胚胎干细胞。这为“基因靶向”技术提供了施展本领的空间。如今, 埃文斯在英国加的夫大学担任哺乳动物遗传学教授。

GE Healthcare

## 融合蛋白纯化系列产品

Save  
省钱大行动  
11月1日至12月31日

选择适合您的产品,

快速成为融合蛋白纯化专家

**3** 买 **HIS** 或 **GST** 产品  
即可享受凝胶柱 8 折

凝胶过滤预装柱  
与亲和层析技术  
的完美结合



\*详情见第6页

**2** 购买部分 **GST** 产品  
可享受三种酶 5 折优惠

**GST** 谷胱甘肽  
融合蛋白纯化



\*详情见第4页

**1** 购买 **HIS** 产品 7.5 折优惠

**HIS** 组氨酸  
融合蛋白纯化



\*详情见第2页

**NEW**

**MBPTrap**  
麦芽糖结合蛋白标记

**StrepTrap**  
链亲和霉素蛋白标记



## 解读 07 诺贝尔医学奖技术奥秘（图）

生物通报：一项能让生物学家轻易识别基因功能的“鬼斧神工”技术获得了今年的诺贝尔生理/医学奖。这项技术能帮助研究人员获得“敲除”小鼠，即特异基因失效的变异品种，这能用于确定在健康细胞，发育细胞和疾病细胞中特异基因的作用，以及获得带有人类疾病的动物模型。

美国国家常规医学科学研究所 NIGMS（National Institute of General Medical Sciences，是美国国家卫生署 NIH 成员之一，通过支持基础生物医学研究和全国范围的培训，NIGMS 奠定了其在疾病诊断、治疗和预防的有利基础）主任 Jeremy Berg 表示，“实际上生物医学的任何领域都涉及到了一种敲除模型，这是一种意义重大的技术。”



Oliver SmithiesAP



Mario CapecchiAP



Martin Evans

（图片来自《Nature》）

自 1989 年首次报道了敲除技术，到今天为止已经产生了数以千计的敲除小鼠品系，其中 500 多种属于特异人类失序症，譬如心血管疾病和神经推行性疾病的动物模型。

这一技术起源于一种称为同源重组（homologous recombination）的自然现象——这一现象在生物体中用于损伤的 DNA 修复。包装了 DNA 的染色体都是成对出现——

来自美国犹他州大学的马里奥-R-卡佩奇（Mario R.Capecchiand）、北卡罗莱纳州大学的奥利弗-史密斯（Oliver Smithies）以及来自英国卡迪夫大学的马丁-J-伊文思（Martin J. Evans）由于基因敲除技术以及干细胞研究方面所作的贡献获得了 2007 年的诺贝尔生理/医学奖，他们将分享 150 万美元的奖金，这项工作也得到了美国诺贝尔奖——拉斯克奖的认可：早在 2001 年就获得了拉斯克奖。

各来自一个亲代——在 homologous recombination 的过程中，DNA 片段可以在两条链之间进行交换。Capecchi 和 Smithies 发现在小鼠 DNA 中可以利用同源重组插入已知序列的人工 DNA，从而靶向特异小鼠基因。

而 Evans 提出可遗传性的关键因素——这最终导致了敲除小鼠的发展，他提出利用小鼠胚胎干细胞能将遗传物质引入一个不同品



系小鼠。当他将干细胞注射入胚胎中，这些小鼠的染色体，如预期一样，进行了重组。这种“嵌合”的胚胎可以植入“代理孕母”中，当后代进行了配对，这种基因就可以遗传了。之后 Evans 开始在将干细胞注射入小鼠卵中之前利用逆转录病毒将新基因整合到了基因组中修改了干细胞，这些新基因传递给了胚胎，从而遗传给了后代，这种技术与人工基因重组相结合就获得了第一代的基因敲除小鼠。

敲除技术的重要改进——尤其是条件突变体（conditional mutants）的发展——让这一技术成为了生物学家们手中更有价值的工具。一个由 Klaus Rajewsky 发展而来，称为 Cre-lox 的系统，在小鼠出生后的挑选期可以关闭靶基因，这一改进很重要，因为 15% 的基因在胚胎发育过程中都是必需的，敲除可能会导致死亡，而且一些基因只是与后期一些特

殊的疾病相关。

Smithies 认为诺贝尔奖“并不意外”，“大家都清楚，同源重组技术对于我们理解基因组具有重要的意义——我们也许已经测得了序列，但是敲除技术帮助我们理解了这些序列的功能。”

近年来 Capecchi 一直致力于揭示胚胎发育过程中特异基因的作用，他的工作主要集中在个体器官和个体设计程序——这确保了一个动物机体在正确的部位发育生长。

Evans 则发展了许多重要人类疾病，譬如囊性纤维性变病(cystic fibrosis)等的小鼠模型，利用这些模型研究疾病机制，并且试图发现修复这些缺陷基因的方法。Smithies 也发展了一种囊性纤维性变病小鼠，以及高血压和动脉硬化等疾病的模型。（生物通：张迪）

# BIONEER

## 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>



**热卖中**

# 获 07 诺贝尔生理/医学奖成就： 基因敲除的新成果汇总

生物通综合：2007 年 10 月 8 日，诺贝尔生理/医学奖揭晓。来自美国的马里奥-R-卡佩奇（Mario R. Capecchi）、奥利弗-史密斯（Oliver Smithies）和来自英国的马丁-J-伊文思（Martin J. Evans）赢得该奖项，以表彰他们在干细胞研究方面所作的贡献。他们是发明基因敲除技术的卓越科学家。

这项技术飞跃，使人们在生物学、医学研究上创造了一个又一个奇迹。生物通在此特汇总近期有关基因敲除研究以及基因敲除应用研究的几项新成果。

## [《自然》：基因敲除雌鼠性欲高涨](#)

在 8 月 5 日的《自然》杂志网络版上，来自美国哈佛大学霍华德·休斯医学院分子和细胞生物学系的研究人员报道说，通过敲除雌性小鼠的一个基因，能够使它变得像雄性小鼠一样渴望交配。这一发现挑战了通常认为的动物性行为主要是由性激素调节的理论，并且揭示出雌鼠大脑与雄鼠大脑一样具有调节性行为的环路。

在小鼠中，信息素检测是由犁鼻器和主要的嗅觉上皮细胞来执行的。而一种叫做 TRPC2 的基因对小鼠犁鼻器感应生化信息素则起到关键作用。该基因编码的 Trpc2 是一种在犁鼻器神经元中特异性表达的离子通道，对犁鼻器感觉传到至关重要。缺少 Trpc2 的雄性小鼠的性别判断能力和雄性之间的好斗特征被削弱。

哈佛大学的 Catherine Dulac 和同事应用基因工程技术敲除了雌性小鼠体内的 TRPC2 基因。结果发现，缺少该基因的雌性小鼠喜爱爬上雄性小鼠身体，骨盆耸动，并且发出类似雄性小鼠求偶时发出的声音。直到一个月后，

这些雌性小鼠仍旧狂热地追求雄性小鼠。

当研究人员用手术方法将成年小鼠的犁鼻器切除后，这些小鼠也表现出了相同的行为特征，并且这种手术不干扰发情周期和性激素水平。这些发现意味着，犁鼻器介导的激素输入在野生型雌性小鼠中能移植雄性行为并且刺激雌性行为。而且，这些发现还暗示出，与雄性特异性行为有关的功能性神经元环路也存在于正常的雌性小鼠大脑中。

密歇根州立大学的神经学家 Marc Breedlove 说，这项研究很令人惊讶是因为，只做很细微的小的改变，雄性特异性行为就完全在雌性身上表现出来了。

Dulac 表示，不同的物种会使用不同的感应方式去了解世界。啮齿动物主要应用生化信息素调节性行为，而灵长类动物及人类则更多地偏重于视觉特征。

## [无心插柳：基因敲除的意外收获](#)

明尼苏达州大学的研究人员已经确定出一个对正常肌肉功能至关重要的基因（gamma 肌动蛋白基因），并且在这个发现的基础上建立了一种目前了解甚少的人类肌肉疾病的新小鼠模型。研究人员构建了中央核肌病（centronuclear myopathy）的一个小鼠模型。中央核肌病是一种至今了解较少的与肌



肉营养不良类似的肌肉疾病。这项研究的结果发表在 9 月的 *Development Cell* 杂志上。

通过基因工程技术,研究人员能够敲除小鼠中编码 **gamma** 肌动蛋白的这种基因。

**Gamma** 肌动蛋白存在于正常的肌肉细胞中。科学家之前认为如果缺失这种基因,肌肉发育将会严重受阻。

但是, **James Ervasti** 教授和他的研究组发现敲除 **gamma** 肌动蛋白,小鼠肌肉仍然能够形成,但是肌肉细胞功能受损,并最终能导致肌肉细胞的死亡。

**Gamma** 肌动蛋白在肌肉细胞结构中起到一个重要作用,它能与抗肌萎缩蛋白结合,并因此引发 **Duchenne** 肌肉营养不良。最初, **Ervasti** 认为当敲除 **gamma** 肌动蛋白基因时,小鼠可能会表现出与 **Duchenne** 肌肉营养不良的类似症状。但事实上,当这些小鼠出生时,它们表现出了中央核肌病的症状。

这种了解甚少的肌肉疾病小鼠模型将有助于人类解开这种令人疑惑不解的人类疾病。现在,研究人员已经知道 **gamma** 肌动蛋白基因的缺失如何影响小鼠,并且研究人员将会分析造成肌肉细胞死亡的机制。

这一发现还给了研究退化肌肉疾病的遗传学家一个研究人类中央核肌病的新靶标。由于 **Ervasti** 的研究组确定出了小鼠中的一个可能的基因,遗传学家能够对病人进行这种特殊

基因的筛选分析,而无需筛选人类的 30000 个基因来找到这种突变。

### [TFAM基因敲除构建帕金森小鼠模型](#)

### [美国科研人员首次建立基因敲除小鼠实验室](#)

德克萨斯基因研究所宣布莱西肯基因公司(纳斯达克证券: **LEXG**)已经建立了第一个基因剔除小鼠实验室—**OmniBank II** 实验室以克隆胚胎干细胞。并且首批已经制备了 90,000 株克隆,每个都代表了单个基因缺失或剔除的胚胎干细胞。其中包括了 6 千多区域的基因剔除,因此能满足全世界研究人员的需要。实验室打算大量克隆每个基因以确保小鼠的成功存活。实验室已经从 **C57BL/6** 基因剔除小鼠身上制备了干细胞,后者可用于基因功能的研究,从而让研究人员能在各种疾病和环境条件下研究特定基因的作用。这是目前世界上 **C57BL/6** 基因剔除小鼠最大的样库。

而当 2008 年初完工时, **OmniBank II** 实验室将拥有 350,000 株小鼠胚胎干细胞克隆,预计将囊括小鼠 65-70% 的基因。首批建立的实验室提前 1 个月竣工,且比预料的多含 20% 的克隆量。下批的任务预计在 2006 年 12 月完工。根据研究所与莱西肯公司签定的协议,研究人员同样可以从公司里获得特定的细胞。**OmniBank** 实验室所拥有的 270,000 株胚胎干细胞基于 **129SvEv** 基因背景。

罗氏应用科学部 岁末酬谢三重礼



1、回馈大礼: 热销产品 7 折 回馈新老用户



2、幸运大礼: 回传订单 赢取 iPod 大奖



3、礼上有礼: 累计订单 获赠额外礼品

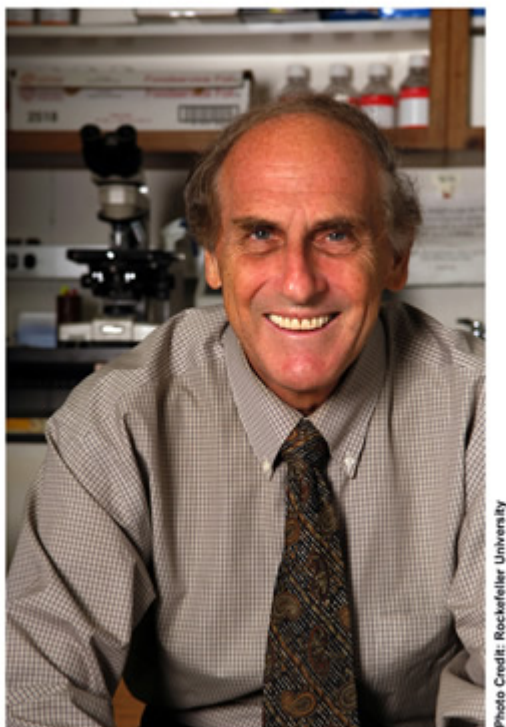




# 2007 美国诺贝尔奖： 拉斯克奖公布（图）

生物通报道：拉斯克医学奖（Lasker Awards）是美国最具声望的生物医学奖，被誉为美国的诺贝尔奖。这个科学奖项始于 1946 年，是由纽约的艾伯特-玛丽·拉斯克基金会（Albert and Mary Lasker Foundation）颁发的。之所以这个奖项被称为美国的诺贝尔奖，除了其自身的权威性和影响力外，还由于这个奖项几乎每年 50% 的获奖者都得了诺贝尔奖。9 月 15 日 5 拉斯克医学奖如同往常一样，在诺贝尔奖即将颁发之际颁布了。

拉斯克奖分为基础医学奖、临床医学奖和公众服务奖，其中前两项专门授予科学家，华人科学家简悦威在 1991 年曾获得过拉斯克奖，当年他是全球唯一的获奖人。



Dr. Ralph M. Steinman

2007 年拉斯克奖颁奖仪式将于 9 月 28 日在纽约市正式举行，届时每个奖项的获奖者将获得 15 万美元的奖金。获得此次拉斯克奖的共有 4 位科学家，其中来自洛克菲勒大学的 Ralph Steinman 博士由于其在树突状细胞及阐明其在免疫系统中的重要作用获得了拉斯克基础医学奖（Albert and Mary Lasker Foundation）。

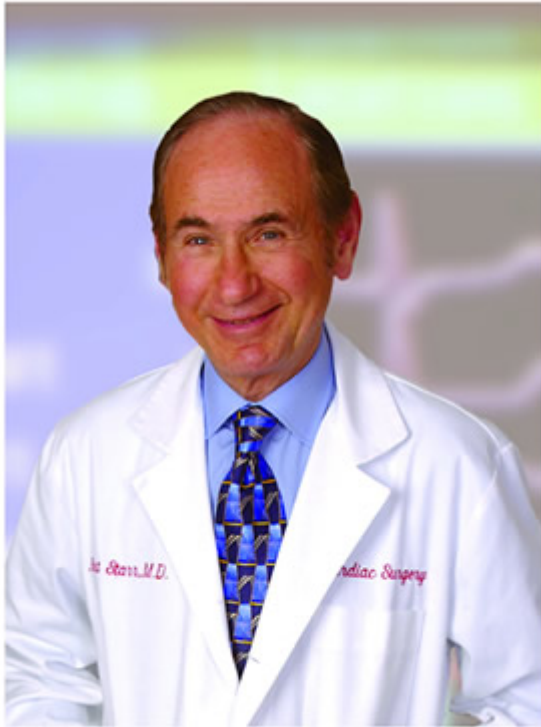
在 20 世纪 60，70 年代早期，免疫学家在研究 T 细胞和 B 细胞的时候，分离得到了一种来自脾脏的“accessory cells”悬浮液，这种细胞可能对于体外激活免疫细胞来说是必需的。虽然一些科学家猜测这些细胞是巨噬细胞，但是没有人知道在这些悬浮液中启动反应的主要元件。当时还是 Zanvil Cohn 实验室的一名博士后的 Ralph Steinman 是一位巨噬细胞方面的专家，他决定要搞清楚到底是怎么回事，他在最近的一篇综述中写道，“我们认为（这一激活过程）很关键。”

Ralph Steinman 和他的同事培养了这些脾脏细胞悬浮液，他发现了一些乍一看像是巨噬细胞的罕见细胞类型，但是不同于巨噬细胞，这些星状细胞缺少溶酶体室（lysosomal compartments），并且能“发送信号，侦测环境”。1973 年，Steinman 发表了相关的第一篇文章，将这种细胞命名为树突状细胞（dendritic cells），并很快证明这些细胞在辅助细胞（accessory cell mix）中的关键作用：比其它脾脏细胞作用强 100 倍。

获得拉斯克临床医学奖（Albert Lasker Award for Clinical Medical Research）的是来自于 美国普罗维登斯卫生系统（Providence Health System）的 Albert Starr 和法国巴黎第五大学蓬皮杜医院（Hopital



Européen Georges Pompidou) 的 Alain Carpentier, 他们获奖的理由是在心内直视手术 (open-heart surgery) 中的突出贡献, 他们分别利用机械手段和动物源获得了心脏瓣膜。



Dr. Albert Starr

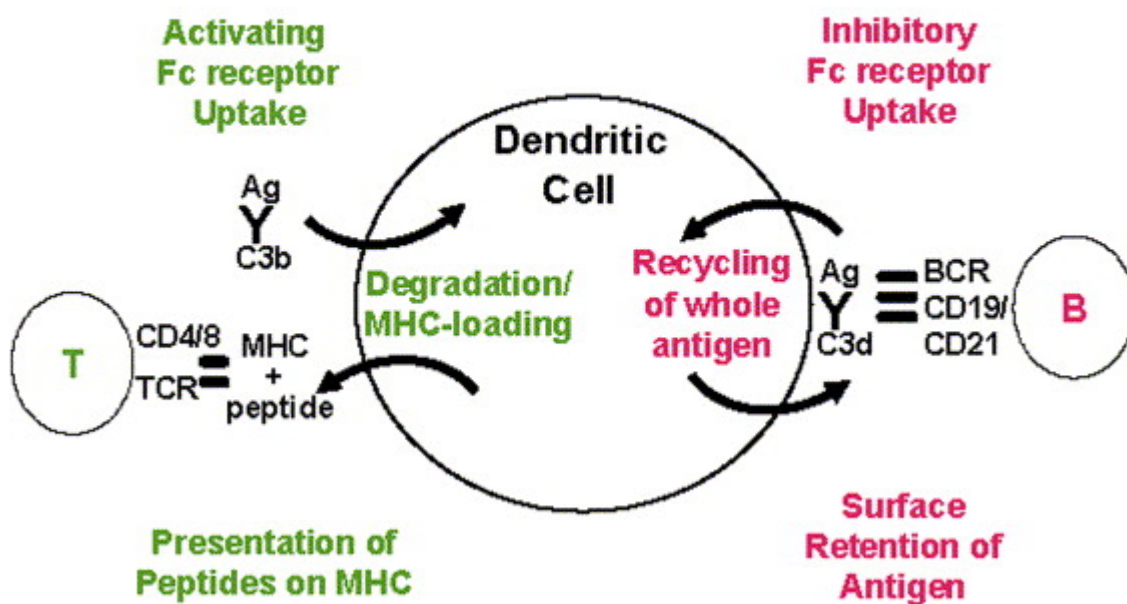
Photo Credit: Providence Health System, Oregon



Dr. Anthony S. Fauci

而今年的拉斯克公众服务奖 (Mary Woodard Lasker Award for Public Service) 则颁给了美国过敏和传染病国立研究院

## Complementary Roles of Fc receptors in Ag Presentation



(National Institute of Allergy and Infectious Disease, NIAID) 的主任 Anthony Fauci 博士, 以表彰其在一项帮助发展中国家抵御艾滋病项目中所作出的努力, 以及在美国制定了全国性的生物防御策略。

附: 树突细胞对 B 细胞的号令

免疫系统的哨兵—树突细胞 (Dendritic

cells; DCs), 有一个特殊的名声, 就是能切碎任何所遇见的外来蛋白 (foreign protein)。并且, 它们会将剩下需要处理的物质指点给 T 细胞, 帮助协调免疫反应过程。现在, 美国的研究者发现: 树突细胞还能直接而完整地捕获“战俘”并拖运它们, 整个过程赶在抗体生产细胞—B 细胞行动之前。

链接: [2005 年美国诺贝尔奖--拉斯克医学奖颁发](#)



上海晶泰生物技术有限公司  
Gene Tech(Shanghai) Co.Ltd.

## 基因芯片服务

作为国内Affymetrix芯片服务的开创者, 上海晶泰生物技术有限公司从事芯片服务已经超过5年, 提供了数千次成功的芯片实验服务。目前, 我们进一步与Combimatrix公司合作, 将基因芯片服务拓展到生物学、医学以及药理学等各个领域, 为您提供优质可靠的芯片服务解决方案。



### ◆ 标准化平台

采用全套Affymetrix7G基因芯片操作平台, 完全遵循全球标准化的操作流程, 有力保证芯片分析的可信度和重复性。

### ◆ 高质量的试剂

整个实验过程完全采用芯片生产商建议的试剂和耗材, 令您的实验结果更精确。

### ◆ 完备的芯片服务种类

- RNA表达谱芯片
- SNP芯片
- MicroRNA芯片
- Exon芯片
- Tilling芯片
- Resequencing芯片
- Combimatrix CustomArray定制芯片

敬请垂询: 021-51876181-632

或访问: <http://www.genetech.com.cn>

### ◆ 完美的质量控制

所有芯片结果都符合多重质量控制指标, 向您提供真实准确的数据。质优价廉的Real-Time PCR验证服务, 验证实验数据的有效性、一致性和重复性。

### ◆ 强有力的技术团队

高素质、经验丰富的技术团队, 为您提供最可靠的实验结果和最详尽的生物信息学数据分析。

### ◆ 最优惠的价格

一流的服务+合理的价格, 让您的每份投入均得到最大效益的回报, 是我们一直努力的目标。



# 谁来为我们的实验室安全性负责？



**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

——2007 赛默飞世尔中国生物实验室安全调查活动拉开帷幕

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。



实验室安全性问题好像提来已久，然而却渐渐成为一块“鸡肋”——食之无味，弃之可惜，往往初进入实验室的研究人员在之前的种种警告之下会额外小心注意，久而久之却“习惯成自然”，置若罔闻或形式主义了。

今年 8 月，英格兰南部萨里郡出现两起口蹄疫事件，英国环境、食品和农村事务部经调查，发现导致此次口蹄疫的病毒与动物卫生研究所和梅里亚尔动物保健公司实验室代号为“01BFS67”的病毒类似。因此认为这一次暴发的口蹄疫疫情“极可能”源自疫情发生地附近实验室，而人类活动可能是病毒得以传播的途径。

这一可怕的发现其实并不是首次从实验室流传出来的泄漏事件，早在 1979 年，前苏联乌拉尔南部的大工业城市斯维尔德洛夫斯克的生物武器实验室发生爆炸，约 10 公斤的炭疽芽孢粉剂泄露，爆炸释放出大量的细菌毒雾，造成附近 1000 多人发病，数百人死亡。2001 年，在英国波布特莱尔实验室东北方向

50 公里的布伦特伍德地区首先发生了口蹄疫。据分析，口蹄疫病毒很可能就是从波布特莱尔实验室里泄漏出来，经过空气传播到布特伍德的地区，从而造成了大规模的口蹄疫爆发。2003 年 1 月，美国得克萨斯理工大学的微生物学家巴特勒教授检查实验室的时候发现，实验室中 30 份鼠疫杆菌样本不翼而飞，60 多名联邦调查局的特工紧急搜查后，并没找到这批鼠疫杆菌样本，且实验室似乎也没遭到入侵迹象。2005 年美国新泽西医学与牙科大学公共卫生研究所的一个实验室里，3 只感染了鼠疫杆菌的实验小鼠突然间“人间蒸发”，这令美国官员十分担心，因为如果这些小鼠一旦落在恐怖分子手里，灾难性的生物恐怖袭击就随时可能随时降临。

在国内，2004 年的 SARS 实验室事件还依然让人记忆犹新吧，当时中国（包括台湾在内），新加坡等国一些实验室在急于开展科学研究的情况下，没有经过卫生部的批准就开始了针对 SARS 病毒的研究，引发了许多问题，

最严重的就是发生实验室感染,这些由于实验室本身的条件、实验室里的粗心或实验室管理不善等造成的危害让人们异常震惊。

这些是造成了重大影响,引起了世人关注的事例,然而还有一些于个人影响较为深远,体现得不明显的安全性问题。君不见 DNA 电泳实验 EB 染色过的琼脂糖凝胶不经处理,任意弃于垃圾桶中,不做垃圾分类,让人不禁为拾垃圾的清洁人员的健康担心;君不见聚丙烯酰胺凝胶制作过程甚不注意,不在通风橱中操作,也不佩戴口罩和手套,实在让人佩服操作人员的勇气;君不见同位素实验操作“粗放豪气”,细心不足,胆大有余,难道由于同位素操作不当造成的遗憾警示还不多吗?君不见工程菌培养液,实验废液任意洗涤,不经处理倒入水池之中,这些重组 DNA 进入水体,土壤后会流向何处呢?目前已知 DNA 在土壤中至少可以存留 40 万年,1992 年意大利科学家就发现,被认为安全的大肠杆菌 K12 菌株,进入下水道后竟可以存活 72 小时,在这么长的时间内它完全可以与其它细菌进行基因交换。

这些隐患我们不是不知道,只是在长久的实验当中逐渐消除了警惕性,放松了严格要求,但是最后谁来为这些造成后果买单呢?一位上海的博士在使用过氧化氢的时候,没有带防护眼镜,结果过氧乙酸溅到眼睛,致使双眼受伤,另外一位博士生在使用三乙基铝的时候,不小心弄到了手上,由于没有带防护手套,出事后也没有立刻用大量清水冲洗,结果左手

皮肤严重,需要植皮,一位做药物实验的研究生将大孔树脂直接装层析柱,大孔树脂吸水膨胀造成爆炸,同样有实验人员将乙醚提取物置于冰箱中过夜,第二天打开冰箱门时发生了爆炸,这些都是实验中不谨慎,总抱着侥幸心理,认为不会出事,结果河里面淹死的就是那些会游泳的。另外许多做这一方面实验的研究人员也都深有体会,一些人在 40 岁之后就会秃顶,身体越来越差,追其根源,就是年轻的时候实验操作颇不注意,带来了许多遗憾。

世界卫生组织(WHO)一直非常重视生物实验室安全问题。早在 1983 年就出版《实验室生物安全手册》,其中将传染性微生物根据其致病能力和传染的危险程度等划分为四类;将生物实验室根据其设备和技术条件等划分为四级;其相应的操作程序也划分为四级,并对相应级别的实验室及程序进行规范。

2003 年 4 月,《实验室生物安全手册》(第三版)以电子版形式在 WHO 网页上问世,再次强调良好的专业训练和技术能力对安全健康的实验室环境的重要性,以及研究人员对自身、同事、社会和环境应负的责任;尤其强调在对新发现的病原体进行研究时,一定要具有高度的责任感,预先评价其危险性。

针对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,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!(生物通:张迪)

主办单位:



协办单位:





# 您身边发生着的事—— 不容忽视的实验室安全问题

生物通特别策划：影片《蜘蛛侠》的最初导火索就是转基因蜘蛛逃逸时咬了男主人公一口，之后使他的生活起了翻天覆地的变化。当然，科幻电影的情节在现实中发生的可能性极低，但在生物实验室中，一些细节的错误操作或会带来环境威胁、健康威胁，有时甚至是生命威胁，例如被尚无药可救的强致病性病毒所感染——SARS 病毒曾感科研人员就是很深刻的教训。在我们身边必定不乏错误操作的例子，而这些小问题的忽略也一样可能导致严重的后果。因此，为了您和他人的健康、为了保护好我们赖以生存的环境，请关注实验室安全性问题并自觉遵守实验室安全守则。以下是一些实验室操作瞬间的特写，相信这些例子对您来说并不陌生。如果您本人或您身边存在一些可能存在安全（对个人、对环境）隐患的例子，欢迎在这里书写下来。让我们共同为促进实验室安全、保护自身健康和环境安全尽一点力！

## 实验室瞬间特写

1943 年，瑞士化学家阿尔伯特·霍夫曼的手指无意中沾染了一些麦角酸(Lysergic acid)，之后，他出现眩晕和视觉扭曲以及想大笑的症状，由此拉开了迷幻药 LSD 时代的序幕。当然，这也算因祸得福了。但是实验室里的很多试剂、药品都是有毒的，还是别幻想着做霍夫曼第二了吧。

.....

世界最后一次有记录的天花病例的主人公是摄影师杰内特·帕克，1978 年他因感染天花死亡，他的死是英国伯明翰大学实验室内的病毒逃逸所致。这个事件不禁又让人想起了几年前的实验室 SARS 病毒感和禽流感病毒感染事件了。

.....

日前，广州日报的一则新闻报道说，生活在实验室里的动物们，也向往自由。广州某动物试验室一公一母两猴子“夫妇”背着它们的小宝宝趁工作人员离开的当口准备一家三口逃出实验室，结果被工作人员发现阻止……还

好“越狱”事件被扼杀在了摇篮里。如果实验室逃逸的动物携带某些危险的病毒、病菌，那么造成的后果可就不堪想象了。

.....

事实上，在我们身边也发生着许多应该引起我们注意的安全隐患。

电泳高手：小李经常做凝胶电泳实验，各个步骤的操作技术很纯熟，速度很快。由于嫌碍事费时，在称量药品时从不带手套和口罩、徒手拿跑好的胶块。用后的废液随手倒入水槽，而胶块随手就扔到了垃圾筒里面。

隐患：丙烯酰胺具有很强的神经毒性，并可通过皮肤吸收，其作用具有积累性，配制时应戴手套等。聚丙烯酰胺无毒，但也应谨慎操作，因为有可能含有少量的未聚成份。废液随便倒入水槽、胶随便扔掉可能造成环境影响。

.....

“眼镜超人”：最近，一师兄有了“眼镜超人”的“美誉”。原因是他近期常在紫外灯下观察用



溴化乙锭（EB）染色后的电泳结果。因为是近视眼，所以在观察结果的时候自然是带着眼镜了。如此这般，眼睛超人诞生了：没多少天，他的脸变黑了，但是因为带着眼镜，所以整张脸就只有两只眼睛周围成了白嫩肌肤的最后一块“净土”了，就好像带了天然的眼镜似的。

.....

我的一个同学在某研究所工作，工作很拼命，做实验常常通宵达旦，常常处于持续的疲劳状态。很是担心她的健康问题。前段时间就出了事情：长时间没有休息，很晚了还要在无菌操作室做个实验。于是就进入了正在用紫外灯杀菌的操作室，就这样在里面呆了两个小时左右，等关灯锁门的时候才发现紫外灯还开着！这时才感觉到身体裸露的皮肤有一种灼热感。之后，她的脸部、脖子、胳膊等部位的皮肤黑了不少，而且还出现了蜕皮……

.....

同位素示踪方法是一种常用的分子生物学研究技术。但是，接触放射性的同位素无疑对人体是有害的。之前认识的一名女老师，在同位素示踪方面是颇有名气的专家。但刚到中年的她，身体素质已经相当差了，经常得病，而且颇有秃顶的架势。

.....

转基因实验中，用后的工程菌是如何处理的？如果直接投放到环境中，可能会导致基因污染，或者可能导致“超级害虫”的诞生……

珍爱生命，保护环境，从我做起。希望读者朋友踊跃参与生物实验室安全大调查活动，欢迎将您身边发生着的小事情在生物通BBS写下来。（生物通雪花）



**2007赛默飞世尔中国生物实验室安全调查活动**由生物通网站联合《遗传》、《中国生物工程杂志》、《生命世界》杂志举办，此次活动的主旨在于针对目前国内生物实验室存在的安全性问题提出警示，希望通过各类活动揭示目前存在的严重问题，并将读者的意见反馈给相关部门。

为了更准确，更全面的获得各地生物实验室安全性的情况，以便呈递给相关部门，特向广大读者征集实验室现状情况投稿，投稿方式包括：

1. 外派观察员：征集各地生物实验室中的志愿观察员，长期提供本地区实验室安全性的相关情况；
2. 有关生物实验室安全性的文字稿件，包括对存在的严重问题，以及安全性措施实施良好的生物实验室的描述；
3. 提供各类情况的照片证明，比如操作错误的实验，受到影响的周边环境等，照片最好提供时间，地点的证明；
4. 顾问：征集能提出具有全面性、分析性和建设性建议的专家或老师，作为生物实验室安全性的顾问。

**所有参与此次活动的读者将获得ThermoFisher提供的精美礼品。**

活动报名邮箱：[journal@ebiotrade.com](mailto:journal@ebiotrade.com)；[order@ebiotrade.com](mailto:order@ebiotrade.com)

## 07 赛默飞世尔生物实验室 安全性调查之读者感言



在2007 赛默飞世尔中国生物实验室安全现状调查活动刚刚拉开帷幕之际，这一活动就受到了读者的广泛关注，来自五湖四海的许多从事生物科学研究的实验人员纷纷参与了此次调查。

在三天收到的一百多份调查中，包含了云南，上海，福建，北京等各地各实验室填写的调查问卷，一位来自北京中国协和医科大学基础医学院的研究人员提出，“应该建立严格的实验规章制度（有法可依）；严格按照规章制度操作；政府应该投入一笔资金以供（各院校研究所）建立合理的实验废弃物处理机构（专款专用）；各院校研究所应加强本单位工作人员的教育和培训。引起实验室安全原因最主要的两点：一、‘钱’；二、人的意识”，复旦大学一重点实验室的实验人员认为，“国家应制定相应政策强制各生物实验室执行相关人员的保护措施，购置必要的防护装备，对实验室负责人进行安全培训，并对实验室内造成的安全损害应完善医疗赔偿机制”，另外一位来自新疆畜牧科学院的研究人员对生物安全性问题十分看重，他（她）在网调建议中填写道，“实验室安全问题迫切需要解决！不知道对我们这代人的危害是否还会延续到下一代，另外更多

不相关的人也在或多或少的受着威胁！建议：(1)每个城市设立实验垃圾分类回收处理单位，统一分类处理有害物质；(2)省一级设立实验室安全监督部门，实时安全监控，实验室必须符合安全标准才可开放使用；(3)实验人员定期体检制度”。还有实验人员认为，“重点是每位实验人员自己要认识到对自身健康的危害，院系或者实验室可以定期播放一些类似学车前看的录像，提高警示”。

此次网调在开始的三天里就获得了如此多专业读者的关注，许多读者十分踊跃的提出了自己的建议，其中一些安全性建议颇具价值，这些都说明生物实验室安全性问题确实是一个由来已久，具有普遍性的问题，借助此次安全性现状调查的机会，我们希望有更多的读者发表自己的意见，将生物通作为一个交流的平台，我们也将把最后汇总的建议呈递有关机构，希望能逐步解决实验室安全性问题。（生物通：张迪）

# 2007赛默飞世尔中国生物实验室安全 调查

活动报名邮箱：[journal@ebiotrade.com](mailto:journal@ebiotrade.com)；[order@ebiotrade.com](mailto:order@ebiotrade.com)

活动热线电话：86-20-87511980

活动热线传真：86-20-87518923

邮递地址：广州市中山大道8号天河商贸大厦2208室

邮编：510630

联系人：王蕾 徐柏年

呼吁书：

- 我们的生物实验室存在多少危险？
- 不良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？





# 实验室安全性从导师抓起？

## 07 生物实验室安全性调查之读者感言二

在2007赛默飞世尔中国生物实验室安全现状调查活动刚刚拉开帷幕之际，这一活动就受到了读者的广泛关注，来自五湖四海的许多从事生物科学研究的实验人员纷纷参与了此次调查。

许多读者十分踊跃的提出了自己的建议，其中一些安全性建议颇具价值，也有一些提出了比较尖锐的问题，比如有读者认为，“全国大部分导师都是称老板，因为他们不配作老师，与公司的老板无异，学生只不过是廉价的劳动力而已”，东北农业大学也有研究人员提出，“必须有国家出台强制性措施，并且有强力部门强制执行；否则总有实验室负责人出于成本考虑，忽视实验室安全标准，因为毕竟老板很少直接参与实验”，湖南师范大学的一位读者更是直接表示，“对于没有充足实验经费的实验室，（生物安全性）根本无从谈起，老板们都是想着发文章，不管员工死活”。

从2007年开始，全国许多高校陆续进行了研究生培养体制改革，其中最引人注目的一项改革就是有关研究生收费的问题，试点高校按照规划，研究生将不再区分公费和自费，所有入校研究生新生都必须交费。学校将采取颁发奖学金、助学金等方式资助优秀研究生，这使得越来越多的研究生把自己的导师称为“老板”。

研究生“给老板打工”是种通俗的说法，实际上应为“助研”。导师在高校可以申请到两种项目，一种是由政府长期设立各类研究基金

支持的纵向项目，包括自然科学基金、社科基金、863计划等，另一种是由政府或企业就某项目研究课题委托的横向项目。自国家实施“助研”制度后，导师争取到的这些国家或企业的研究项目可以挑选研究生参与，并且会根据工作量和贡献的大小，拿出部分科研经费给学生做报酬，因此学生把“助研”称为“打工”，把导师戏称为“老板”。但这也反映了师生间的经济利益开始浮出水面，有些导师带的学生多，经常顾及不到全部，就经常让高年级的师兄师姐带低年级的师弟师妹，甚至有些导师由于整天只顾挖空心思搞项目赚钱，连本科生的课，也让自己的研究生代上。其关心的主要就是发表文章的数量，以便下一次申请项目之用。

这当然只是个别现象，然而如果在类似于实验室安全性这些最基本的问题上，导师不能设身处地的为学生着想，那就更加不用提到师徒间促膝畅谈、共同钻研，导师给学生传道授业解惑了，正如福建的一位读者所说的，“记得我国民俗学泰斗钟敬文先生去世前曾留下这样一句语重心长的话：‘知识分子应该是社会的良心，是社会的中流砥柱’。我想作为研究生导师的知识分子，应该率先垂范、带个好头，在职业操守上脱掉五花八门的外衣，穿上货真价实的“导师服”。



赛默飞世尔科技旗下品牌

### 液体培养基

**非常4+1, 每瓶¥48!**

买PIERCE亲和纯化产品

**送双肩背电脑包**





# [生物实验室安全性]说出自己的声音!

2007 赛默飞世尔中国生物实验室安全现状调查活动到目前为止已进行了半个多月了, 这一活动就受到了读者的广泛关注, 来自五湖四海的许多从事生物科学研究的实验人员纷纷参与了此次调查。

近期这一活动进入了另一阶段: 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)。

在我们获得的调查问卷中, 许多读者提出了十分有建设性的意见, 而且也表明了对于生物实验室安全性极大的关注, 这让我们倍受鼓舞, 也坚定了此次活动的信心和信念。

在此基础上, 我们向外征集读者投稿, 招募外派观察员和生物实验室安全顾问, 希望能以实际行动来建立一个平台, 让我们实验人员, 研究人员说出自己的声音, 并通过这种集思广益的形式, 真正作出一些行动, 支持国内生物实验室安全性的健全。

目前已有一些读者对此表示了支持和响应, 有一位海外研究人员来信说, “我大概是从去年开始关注生物实验室安全性问题。当时我作为访问研究生在加拿大学习, 对比国内高校和研究所对实验室安全与环境的忽视, 有感于加拿大对于环境、安全、健康的重视。现在我在美国做博士后, 同样也看到了美国高校对生物安全环境的严格控制和完善的管理体系。我甚至在网上找到了台湾教育部“实验室环保安全卫生网”——相比大陆, 台湾已经先行了 17 年, 早在 1990 年台湾教育部就成立

了环境保护小组; 而在我们教育部的官方网站上根本就搜索不到‘实验室安全’的信息, 在国内争办世界一流大学的著名高校官方网站上也搜索不到相应的实验室安全管理机构”, 他表示很高兴看到国内也有人开始关注这一问题了, 并且是“一个团队在做, 这比个人有力量得多”。

我们十分感谢这些热心读者的关注, 他们是真正具有远见, 看到了国内生物实验室安全性现状中的隐患的学者, 研究人员, 我们希望能有更多的人和他们一样, 在认识到了目前现状危险性的同时, 也要说出来, 说出自己的声音。

另外, 一些愿意成为外派观察员的读者提出了一些联系方式方面的疑问, 我们在此统一作出回答: 参与形式可以通过邮寄, 也可以通过电子邮箱发送 (2G 以内), 我们的联系邮箱是:

[journal@ebiotrade.com](mailto:journal@ebiotrade.com) [order@ebiotrade.com](mailto:order@ebiotrade.com), 还可以通过电话直接沟通, 联系电话为: 020-87511980。

康成生物

新特价

KANGCHEN

Excellence for Research

microRNA芯片3999元特价服务活动



# [外派观察员特稿]生物安全

## 实验室安全事故预防及对策

**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!

### 生物安全实验室安全事故预防及对策

作者: 浙江工业大学 Eric King

根据事故分析、预测与预防理论阐述, 任何安全事故从理论和客观上都是可以预防的, 通过合理有效的管理和技术手段消除和防止事故隐患, 使发生事故的概率降低到最小限度。任何事故的发生, 人的不安全行为和物的不安全状态是事故发生的直接原因。人一方面是事故要素, 人的异常行为会导致与构成事故。另一方面是安全因素, 人的安全行为能保证安全。美国安全工程师 Heinrich 认为大多数伤害事故都是由人的不安全行为引起的, 物的不安全状态的产生也是由人的缺点和错误造成。因此, 有效加强实验室工作人员行为管理是防止生物安全实验室生物危害事故的关键环节。

#### 2.1 加强实验室人员的预防性安全管理工作

2.1.1 加强人的预防性安全管理工作, 做好实验室工作人员的安全素质管理: 素质因素具体体现在实验室工作人员的生理条件、安全技术素质、意志道德品行等。例如, 实验室工

作人员对专业知识和专业实验技术环节比较过硬, 但是对安全操作和个体防护往往疏忽, 发生事故的实例也有报道。某病毒实验室的一位研究员在清理运输箱废弃物时, 未按规定戴上手套, 因而感染了 SARS。因此, 要经常开展安全宣传教育, 使实验室工作人员熟悉和掌握安全常识和操作技能和个体防护技能。定期进行安全培训, 提高实验室科技人员的安全技术素质, 达到生物实验室安全操作的客观要求。良好的微生物操作技术是实验室安全的根本。

2.1.2 做好实验室工作人员的动态安全管理: 动态因素涉及①违背安全规律: 有章不循、执章不严、冒险蛮干;②身体疲劳状况: 精神不振、意志恍惚、力不从心;③工作需求改变: 急于求成、心不在焉、侥幸心理。如果领导者只注重科研课题的进展和科技成果的取得, 过分强调经济效益和单位业绩, 从思想上对安全工作不重视, 工作人员势必会有章不循、执章不严、存在侥幸心理, 工作涣散给安全事故埋下隐患。因此, 做好劳动者的动态安

全管理必须要克服安全管理的无科学性、简单化、形式化的现象。建立、健全安全法规,制定、完善、落实各种安全管理制度,并使规章制度正规化、规范化有效运作。开展不同形式的安全检查,监督、检查、落实要横向到边,纵向到底,促使人们的安全生产活动形成自然循环规律。

**2.1.3 做好实验室人员受家庭社会等异常环境影响的管理:**良好的环境是保证实验室安全运行的物质条件,异常环境是导致实验室危害事故的物质因素。环境条件因素影响导致事故的因素包括:①家庭社会环境因素影响;②工作环境条件因素影响;③异常情况突然侵入影响,如心烦意乱、恐惧胆怯等;④异常失控影响,如实验室管理混乱、违章不纠等。做好环境影响的安全管理,管理人员不但要了解实验室工作人员在岗位的情况,而且还要善于观察和发现员工受社会环境和家庭环境影响,一旦发现有些人员情绪反常、思想散乱、烦恼忧虑、苦闷冲动、有产生异常行为的可能时,要及时了解情况做好思想工作,因为这些现象将直接影响和激发工作人员的行为异常,从而导致安全事故的发生。要充分尊重关心员工、帮助员工解决存在的问题,消除后顾之忧。实验室的工作环境和条件发生变化要渐进适应,第一次使用新设施、新设备、新防护用品,新材料、新危险源时要克服惊惶失措、恐惧胆怯、措手不及和心情激动、欢乐兴奋等心理现象,这对生物危害级别较高的、接触高危标本几率较大的区域操作者至关重要。

**2.1.4 要解决好安全管理中存在的问题:**运用安全法制手段加强生物安全实验室条件的建设,发挥单位生物安全组织管理机构和生物安全委员会的作用。采用科学的安全管理方式,提高管理人员的安全技术素质,培养高质

量的安全管理人员,管理措施要到位,坚决杜绝违章指挥现象。做好实验室生物安全监督工作,加强实验室设施、工具、安全设备管理和运行检测消除隐患等,加强与污染源操作有关的环节的管理和监督,把危险控制在允许的范围内。认真做好实验室工作人员的个体防护的管理和监督,达到实验室安全工作的要求。做好实验室工作人员的资格培训和模拟训练,保证实验室人员掌握实验室技术规范、操作规程、生物安全防护知识和实际操作技能,考核合格上岗。

## 2.2 强化和提高人的安全行为

预防事故发生提高实验室工作人员的安全意识,使其产生安全行为,做到自为预防事故的发生。首先要开展安全教育提高人们预防、控制事故的自为能力,还要抓好人为事故的自我预防。人为事故的自我预防要做好以下几个方面的工作:① 自觉接受安全教育,不断提高安全意识,从思想上为实现安全生产提供保证;②掌握实验室实验技能和安全技术知识,不断提高安全素质和应变事故能力,经常遇到的高危操作要熟练,为实现实验室工作的安全完成提供技术保证;③严格执行安全法规和微生物操作技术规范,不能违章作业,冒险蛮干,用安全法规统一自己的工作行为;④做好个人使用的设施、工具、安全设备和个体防护用品的日常维护保养,使之保持完好状态,并要做到正确使用,当发现有异常时要及时进行处理,控制事故发生;⑤服从生物实验室的安全管理,并敢于抵制违章指挥,保质保量地完成自己分担的实验室工作和任务,遇到问题和发现隐患要及时提出,求得解决,确保实验室安全运行。

## 2.3 改变和抑制人的异常行为



**2.3.1 自我控制:**人的异常意识产生异常行为,从而导致人为事故。自我控制是行为控制的基础,是预防、控制人为事故的关键。例如,实验室工作人员在从事工作之前或之中,当感觉发现自己有产生异常行为的因素存在时,能及时认识和加以改变,或终止异常的活动,均能控制由于异常行为而导致的事故。当发现实验室环境异常,设施、工具、设备、安全防护装置、个体防护异常,或领导违章指挥有产生异常行为的外因时,能及时采取措施,改变异常状态,抵制违章指挥,也能有效控制由于异常行为而导致的事故发生。

**2.3.2 跟踪控制:**对已知具有产生异常行为因素的人员,也就是常说的“危险人物”,容易冲动者、不协调者、心理不平衡者和不守规矩者,做好转化和行为控制工作。例如,对已知的违反安全规章制度人员,指定专人负责做好转化工作和进行行为的监督控制,防止异常行为的产生和导致事故发生。

**2.3.3 安全监护:**对从事危险性较大实验室工作人员,要指定专人对其生产行为进行安全提醒和安全监督。如,从事高致病性微生物相关实验活动应当有 2 名以上的工作人员同时进行困。相互监护,防止失误和不规范操作。

**2.3.4 安全检查:**实施科学的安全检查,实验室管理层有责任确保安全检查的执行图。对从事生物实验室工作人员的行为进行各种不同形式的安全检查,对安全检查结果及时总结和发现工作人员的异常行为隐患。例如,工作前后检查,周期性检查,安全检查表检查,专业性安全检查,查人员、设施环境、安全管理、安全教育、安全防护和执行情况。

**2.3.5 技术控制:**运用安全技术手段控制人的异常行为。技术手段控制要坚持从本质安

全观点出发,从实验室建设开始就从技术工艺、设备、设施本质上实现安全化,含有防止事故发生的功能。在规划设计阶段从根本上消除事故发生的可能性,在设计上应能阻止或限制操作人员与感染性物质的接触。例如,设置安全报警装置,利用科学技术手段对实验室工作过程全程监控,出现违反程序的行为立即报警,监督实验室工作人员安全操作程序化。实验室隔离门自动关闭并互锁的设置能避免双门同开而压差失衡、气流流向破坏、微生物气溶胶扩散;仪器设备安装连锁装置能控制人为错误操作而导致的安全事故;采用光、声、色、或其它标志警示实验室工作人员的异常行为。

## 2.4 加强实验室设备设施和实验室安全工作条件的管理

**2.4.1 根据实验室的等级需要和标准**做好设备选购、验收、安装调试,进行技术培训掌握性能和安全使用要求。进行运行中的所有设施设备、个体防护装备的检测、检查、维护、巩固可靠性。建立设备档案,做好设备事故调查分析、严格设备的检查、维护和报废制度。

**2.4.2 加强实验室安全工作条件的管理,**预防和控制异常条件导致的事故。严格按实验室的等级和标准规范要求加强实验室安全工作条件的系统规划管理和控制,防护装备和用品的使用和管理要达到标准的要求。这同时也为职业安全健康工作提出了要求,这是事关工作人员的基本人权和根本利益的问题。因此,无论从保护劳动健康还是完善我国经济运行机制都应注重职工的劳动保护,进一步改善安全生产状况,加强职业健康安全的技术投入,推动我国职业健康安全管理体的发展。

**2.4.3 做好时间因素导致事故的预防**, 正确处理工作与时间的关系, 劳逸结合。严格遵守有时间规定的操作。如, 在高度危险情况下, 接触生物危害材料和动物后使用杀菌肥皂, 搓洗至少 10 秒。应急事件的紧急救助处理要遵守安全时间的运用, 感染性物质的破碎及溢出时应立即覆盖受污染物品及溢出物, 消毒至少 30 分钟。加强启动应急预案的演练。做好季节性变化安全防范措施。

### 3 结束语

生物安全实验室的安全管理和建设已经纳入我国的法制化管理机制, 有了国家标准和管理条例, 制定出严格的生物安全管理与操作细则等并不能保证万无一失, 更重要的是要严格执行。实验室的安全建设必须常抓不懈。只有真正把“安全第一”摆在首位, 才能不折不扣地落实各项管理制度和技术规范。制定了标准

和管理条例并不等于生物实验室有了安全保障, 关键重在管理。做到生物安全实验室的真正安全, 要运用科学的安管理理论、科学的安管理方法、科学的安管理技术; 安管理法制手段、行政手段, 经济手段、文化手段。把科学的安管理贯穿到始终, 要克服传统的轻视“事前管理”, 注重“事后处理”的安管理模式。提倡安管理科学化, 预先对人的不安全行为和物的不安全状态的危险性进行预防和控制, 变“事后处理”为“事先控制”。要充分运用安全法制对策、工程技术对策、安管理对策和安全教育对策等, 保证生物安全实验室安全运行。

以上为本人在从事实验室安全工作中得到的一点启示, 希望对广大的生物实验工作者有一定的帮助, 希望大家实验顺利! 多出成果!



## 杰美新产品推荐

### GENMED 产品推荐

(产品信息更新, 以本公司主页为准)

**GENMED 产品 超越万种**

**生物技术的杰美王者 一统天下**

**GENMED 产品 纯正进口**

**树立标准 指点科研**

**GENMED 产品 令您心高气傲**

**因为她造就了大师数十项惊人发现**

**二百多篇《SCIENCE》《NATURE》《CELL》论文**

**全球论文引用率第一的科学奇迹**

### 联系我们:

关于杰美产品辞典, 欢迎登录杰美网站主页: [www.sh-genmed.com](http://www.sh-genmed.com)  
或生物通网站上杰美广告: [www.ebiotrade.com](http://www.ebiotrade.com)

联系地址: GENMED SCIENTIFICS, INC. USA 大中华区上海分公司

上海市浦东新区张江高科技园区哈雷路1011号301室

邮编: 201203

技术部电话: +86 (021) 58559577 X101; 13661801385

市场部电话: +86 (021) 58559577 X102; 13311661756

订购电话: +86 (021) 58559577 X109

传真: +86 (021) 58559383

Email: [info@sh-genmed.com](mailto:info@sh-genmed.com)



# RNAi 技术突破: siRNA 体内传递机制

生物报道: 小 RNAs 如何进入哺乳动物细胞?

一切开始于花: 上个世纪 90 年代挪威的研究人员发现在矮牵牛 (petunias) 中有一种特殊的基因的额外拷贝可以抑制其活性, 而不是如之前假想的增强其活性。几年之后这种基因研究发现其机制基于细胞中 mRNA 的降解, 最终在 90 年代末期诺贝尔获得者 Andrew Fire 和 Craig Mello 建立了 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 技术解决了这一问题: 利用双链 RNA 特异有效关闭基因。科学家们利用秀丽隐杆线虫 (Caenorhabditis elegans, 简称 C. elegans) 进行研究, 但是之后 Fire 和 Mello 在利用 RNAi 传递进脊椎动物的时候出现了许多问题。尤其是小 RNAs, 即 siRNAs (small interfering RNAs), 在动物操作中十分困难。虽然利用不同的方法, 比如高压喷射 (high-pressure injections) 或者胆固醇协力, 可能可以成功传递 siRNAs, 但是其机制至今并不清楚。

来自苏黎世联邦理工学院 (ETH Zürich) 分子系统生物学的教授 Markus Stoffel, 与 Alnylam 公司合作, 成功阐明了哺乳动物中与脂肪酸结合的 siRNA 如何被吸收的机制。这一研究文章最早公布在《Nature Biotechnology》网站上, 同时将以 siRNA 治疗可能性的内容出现在 11 月印刷版上, 因为 Stoffel 表示 siRNA 能与不同的脂肪酸有效结合。

原文检索: Published online: 16 September 2007 | doi:10.1038/nbt1339 Mechanisms and

optimization of in vivo delivery of lipophilic

siRNAs[Abstract]

胆固醇转运子 (transporters) 扮演着重要角色

Stoffel 和他的研究团队将目光转移到胆固醇修饰 siRNA 上, 并不是因为基于这种复合物的这种方法特别有效, 而是因为这种方法副作用小。所有的研究人员首先希望知道 siRNA 是否能被绑定到出来胆固醇以外的其它疏水亲脂性物质上, 从而能同时减少肝脏的一个靶基因的活性。结果证明有几种这样的脂肪酸 (fatty acids), 但是到底血液中这些 RNAs 结合的所谓的疏水亲脂物质是什么呢?

苏黎世联邦理工学院的研究人员通过脂肪酸研究发现, 这些结合的 partners 就是鼎鼎有名的胆固醇转运蛋白: 高密度脂蛋白 (high density lipoprotein, HDL) 和低密度脂蛋白 (Low Density Lipoprotein, LDL), 以及血液中随处可见的血清白蛋白 (albumin)。如果没有这些脂蛋白离子, 那么 siRNAs 就无法被吸收入组织中。

在另一项研究中, 科学家证明如果 siRNA-脂肪酸分子在实验之前已经牢固的结合到了 HDL 和 LDL 上, 就能更加有效被吸收, Stoffel 研究小组也发现一个 siRNA-脂肪酸分子是结合到 HDL 上还是 LDL 上, 会影响这种吸收的特异性, 会传递到不同的组织: 所有



LDL 复合物启动肝脏的反应，而 HDL 复合物则在肠或肾中起作用。

一个令人气愤的发现

后一个发现说明 siRNA 吸收需要 HDL 和 LDL 受体，研究人员通过失活这些受体证明这一假设，结果发现受体失活后，siRNA 就不能被传递吸收。尽管获得了这些研究结果，但是 Stoffel 还是感到有一些气愤——他发现很难想象这些 siRNA 通过如 HDL 一般正常的吸收途径进入细胞，因为这一路线将会引入细胞自身的消化系统，其中的溶酶体会把 siRNAs 降解。那么这些 siRNAs 如何能避开这种降解呢？Stoffel 认为 siRNAs 可能利用了一种不同的入口进入细胞，因此 HDL 和 LDL 受体只在停靠位（docking station）而不是入口处起作用。

但是这一不同的入口是什么呢？苏黎世联邦理工学院的研究人员想起了一个线虫细胞 siRNA 吸收必需的基因产物：Sid1，在哺乳动物中也有一个这一基因的同源异型体（homologue）。研究人员将这一基因失活，

发现在哺乳动物中 Sid1 也是必需的。整个发现获得了一个完整 siRNA 机制，从开始与特异脂肪酸结合，到连接到疏水性蛋白上，传递至组织细胞中。

研究与治疗的前景

Stoffel 认为通过他们的工作，能确定出 siRNA 吸收机制中最重要的元素，然而他也表示也有可能更多的分子在其中扮演了重要的角色。但是由于这是第一次深入研究这一机制，因此很有可能促进这一技术的快速发展。比如，Stoffel 研究团队想要了解 HDL 和 LDL 是否能被合成蛋白或富集脂质粒子所替代，这样这一技术就可以用于基因治疗中。

而且 siRNA doors 的确定也开启了基础研究的新方法——也许可以用 miRNAs 替代 siRNA，同样的机制对于 miRNA 抑制子而言也应该有效。由于越来越多的研究人员认为 miRNA 在基因调控中发挥了一个决定性的作用，因此 miRNA 的靶向及抑制也许通过这一研究结果能获得进一步的发现。（生物通：张迪）

## siRNA oligos

siRNA 的设计是决定 RNAi 实验成败关键性的第一步。Sigma 采用著名的 Rosetta siRNA Design Algorithm，最大程度的避免脱靶效应和非特异性，提高成功率。并且所有客户都可以享受‘**度身定制**’的服务。不必再为免费软件下拉菜单中有限的选项烦恼，我们有专职的 siRNA 设计专家，可以针对您的要求与设想，提供**更专业的设计、更人性化的服务**。

Sigma 是四大拥有 MIT 专利授权合成 siRNA 的公司之一，拥有强大的生产技术平台。生产基地经 ISO 9000 认证，产品质量有保障。

## shRNA lentivirus

MISSION shRNA Libraries 由麻省理工和哈佛等 11 个著名研究所及制药公司组成的 RNAi 协会（The RNAi Consortium, TRC）所研发，共包括靶向人和小鼠各 15,000 个基因的 150,000 个预制的 shRNA 克隆，可用于瞬时和/或稳定的转录沉默实验，是研究基因功能以及探索开发新药的强大技术平台。Sigma-Aldrich 于 2005 年 3 月成为 RNAi 协会的一员，参与这一技术平台的研发与生产，并负责推广与销售。

[sigma-aldrich.com](http://sigma-aldrich.com)

热线电话：800-819-3336  
email: [orderCN@sial.com](mailto:orderCN@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：100022

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

# 跳跃基因：更安全的基因传递系统

生物通报：要想将一个基因从 A 位点转移到 B 位点，研究人员和基因治疗专家目前只有两个选择：使用一种能有效地将感兴趣基因输送到细胞中的病毒；质粒，一种能够做同样工作的经加工的 DNA 环。

问题是，病毒是感染性的，并且一些类型的病毒偶而会到达癌基因附近的靶标基因组，从而增加癌症风险。质粒不会有这种风险，但是它们却不能在细胞中有效率地复制自己，而这对达到引入靶标基因的最终目的至关重要。

美国威斯康星—麦迪逊大学的研究人员指出，一种利用转座子或叫做“跳跃基因”的新非病毒基因传递系统的出现则提供了一种比病毒更安全、比质粒更有效的替代方法。

在一篇发表在 9 月的 *Applied Biosafety* 杂志上，威斯康星—麦迪逊的分子生物学家、生物安全官员 **Margy Lambert** 描述了一种转座子基因传递系统，即一段能够从一个 DNA 分子跳到另外一个 DNA 分子的 DNA。

基因治疗是一个能让新技术闯出名号的领域。目前在美国大约进行着 140 项基因治疗试验。大多数项目是针对致死性疾病如癌症的。许多治疗利用效率较低的治疗作为表达载体，而一些则使用病毒和被认为安全或有效的非基因疗法，以便于能够通过 FDA 审核成为常规疗法。

已经证实以转座子为载体的技术能够靶向没有癌基因的基因组区域。而且，与质粒相比的一个关键的优势就是跳跃基因技术能够更有效地使引入动物细胞的基因进行稳定表达。

为了利用跳跃基因，研究人员使用了一种

能够将目标 DNA 序列从一个 DNA 分子转移到细胞内的另外一个 DNA 分子的酶。这种酶接着能将关闭以终止基因的跳跃。

此前，美国明尼苏达州的科研人员报道说，睡美人 **transposon (Sleeping Beauty transposon, SB-Tn)** 系统——一种能够避免病毒转移基因技术缺陷的基因治疗技术在实验室中能够矫正导致镰状细胞贫血病 (SCD) 的基因缺陷。

在这项发表在 6 月 12 日的 *ACS' Biochemistry* 的研究中，**Clifford J. Steer** 和同事指出，病毒作为传递载体引发了多种安全关注。

在 SCD 中，编码  $\beta$ -球蛋白的基因的一种突变导致血色素异常，使红细胞变成镰刀形。由于对病毒载体的潜在风险和其他问题的逐渐关注，使病毒载体用于基因治疗遇到越来越多的障碍。

利用实验室培养的细胞，研究人员证实 SB-Tn 系统可以将正常的  $\beta$ -球蛋白基因传递到细胞中。这个系统是一种鱼基因，该基因在沉睡了 1500 万年后于 1997 年被其他研究人员再次唤醒。该转座子系统能够满足基因治疗的关键要求。

细胞摄入由 SB-Tn 技术传递的基因，然后这些基因以长期稳定的状态制造正常的  $\beta$



下转 P48 页

# 酶标仪：不选贵的，只选对的

当你选择酶标仪的时候,首先会考虑的当然是一些基本的参数: 波长范围( Wavelength range ), 光度测定范围 ( photometric range ), 线性度 ( linearity ), 精确度 ( accuracy ) 和阅读时间 ( Read time ), 除此之外, 你也许也会希望观察一下这个仪器是如何控制板孔之间信息交替 ( crosstalk ) 的——这是因为这样就能确保从一个孔中读出来的数据不会包含了周遭孔中传递出来的干扰信号。

在选择酶标仪的时候这些因素都是基本的考虑条件,但是尽管有这些基本的条件作为参考,你仍然会发现在目前的市面上酶标仪各种规格各种样式,琳琅满目,因此真正决定你的选择的是你的需要和要求。根据你的需要可以买一个基本的酶标仪,或者选择一个有一些你所需要的附加功能的,以下是一些著名品牌酶标仪的列表,其中有些具有温度控制和摇板功能 ( plate-shaking ), 有些适合于高通量实验,而有些则是设计的 UV 读数或者动力学实验。这些最后数据的获得自有其不同的用途和功能,重点是你想要的是基本的酶标仪还是更多功能的。

记住：选择权在你手中。

	公司	产品名称	产品描述	序列号	Plates Accepted	波长
	BioTek Instruments	ELx808 Absorbance Microplate Reader	ELx808 是一种操作和数据分析都很方便灵活的酶标仪。这个 multi-channel 的仪器延续了 BioTek 传统的一贯的高标准：精确，准确和可重复性。  on-board diagnostic self-test（便携式诊断自测系统）和 calibration test plate（校准检测系统）确保了方便的确认和记录功能。  所有这些计算操作都是自动的，配合上 BioTek 历史悠久的高品质的硬件设备，ELx808 确实可以称得上酶标仪中的标准之作。		96-well	380 - 900 nm; 340 - 900 nm (UV option)
	Molecular Devices	VMax Kinetic Microplate Reader with Softmax Pro	这是第一部提供了动力学读数功能的酶标仪，这种功能能帮助研究人员监控和自动分析酶代动力学。VMax 的波长范围是 400-750nm, endpoint, 动力读数模式混合模式可以将酶标仪功能从传统的免疫测定延伸到许多生化分析。  包含 SoftMax Pro.	0200-2018	96-well	400-750 nm



	PerkinElmer	Fusion-Alpha HT Domestic System	<p>如果你的研究课题包含了从可溶性分析到细胞基本实验，从 6 孔板到 1536 孔板的各种非同位素检测方法，那么 Fusion 多功能酶标仪可能就是适应你各种实验要求的最好的仪器了。</p> <p>从最基本的研究到深入实验要求，再到高通量筛选，Fusion 成为了第一个多检测平台，适合于你的研究要求和预算。</p>	A153606	6-to 536-well	
	Bio-Rad	Model 680 Microplate Reader With Temperature Control and Internal Thermal Printer, 100-240 V	<p>带有温度控制和内部传热印刷机（internal thermal printer），100-240 V, 50-60 Hz 的 Model680 酶标仪可以用于测量 flat-, U-, 或者 V-bottom microplates，以及 8- 或者 12-well strip plates 的样品的吸光度。</p> <p>Model 680 的特征参数是波长范围 400–750 nm, 8-position filter wheel, 变速摇板（variable-speed plate shaking capability），自动校正，以及温度调节。</p> <p>除此之外，配件包括便携式图形传热印刷机（graphical thermal printer），1 roll of printer paper, 415, 450, 490, and 655 nm 滤镜，电源线，备用熔断器（spare fuse），防尘罩等。</p> <p>大小为 34 x 33 x 15 cm</p>	168-1003	96-well (U-, or V-bottom) or 8- or 12-well strips	400–750 nm
	BERTHOLD TECHNOLOGIE S GmbH & Co. KG	Apollo Absorbance Readers LB 911/LB 912	<p>Apollo-1(LB 911) 是单通道的（1-channel），the Apollo-8 (LB912) 是 8 通道的，可以用于测量光学液体浓度。</p> <p>较大的 plate 选择范围，配合上强大的 Windows 数据程序，使得 Apollo 系列成为优秀的酶标仪</p>	43202	12-384-well	to 340 - 800 nm

上接 P46 页

球蛋白。而且，这些基因能够被遗传，随着细胞增殖而传递下去。

研究人员之所以将这种“睡美人”定义成一个转座子或跳跃基因，是因为它能够从一段 DNA 上的一个位置跳跃到另外的位置。（生物通雪花）



# Pichia 酵母表达系统使用心得

生物通编者按：甲醇酵母表达系统有不少优点，其中以 Invitrogen 公司的 Pichia 酵母表达系统最为熟知，并广泛应用于外源蛋白的表达。虽然说酵母表达操作简单表达量高，但是在实际操作中，并不是每个外源基因都能顺利得到高表达的。不少人在操作中会遇到这样那样的问题，生物通编者特地收集了部分用户在使用 EasySelect Pichia Expression System 这个被誉为最简单的毕赤酵母表达的经典试剂盒过程中的心得体会。其中 Xiang Yang 是来自美国乔治城大学（Georgetown University）Lombardi 癌症中心（Lombardi Cancer Center），部分用户来自国内。

甲基酵母部分优点	与其他真核表达系统比较	与原核表达系统比较
1.属于真核表达系统，具有一定的蛋白质翻译后加工，有利于真核蛋白的表达优点	-	+
2.AOX 强效启动子，外源基因产物表达量高，可以达到每升数克表达产物的水平	+++	+
3.酵母培养、转化、高密度发酵等操作接近原核生物，远较真核系统简单，非常适合大规模工业化生产。	+++	=
4.可以诱导表达，也可以分泌表达，便于产物纯化。	=	+
5.可以甲醇代替 IPTG 作为诱导物，部分甲醇酵母更可以以甲醇等工业产物替代葡萄糖作为碳源，生产成本低	+++	+

+ 表示优胜于；- 表示不如；= 表示差不多

## EasySelect Pichia Expression System

产品性能：

优点——使用简单，表达量高，His-tag 便于纯化

缺点——酵母表达蛋白有时会出现蛋白切割问题

## 全面产品报告及心得体会：

巴斯德毕赤酵母（Pichia pastoris）是一种能高效表达重组蛋白的酵母品种，一方面由于其是属于真核生物，因此表达出来的蛋白可以进行糖基化修饰，另一方面毕赤酵母生长速度快，可以将表达的蛋白分泌到培养基中，方便蛋白纯化。

毕赤酵母表达载体 pPICZ 在多克隆位点 (MCR)3'端带有 his-tag 和 c-myc epitopes, 这些 tag 有利于常规检测和纯化, 而且在 MCR5'端引入了 alpha factor ( $\alpha$ -factor) 用以增加表达, 并且在表达后  $\alpha$ -factor 可以自动被切除。在进行克隆的时候, 如果你选择的是 EcoRI, 那么只需在目标蛋白中增加两个氨基酸序列即可完成。另外 pPICZ 系列选用的是 Zeocin 抗生素作为筛选标记, 而诱导表达的载体需要甲醇——甲醇比一般用于大肠杆菌表达诱导使用的 IPTG 便宜。

### 第一步——构建载体

Xiang Yang: pPICZ 系列有许多克隆位点可供选择, 同时也有三种读码框以便不用的用户需要。

红叶山庄: 有关是选择 pPIC9K 还是 pPICZ 系列? pPIC9K 属于穿梭质粒, 也可以在原核表达, 而 pPICZ 系列比较容易操作, 大肠和毕赤酵母均用抗 Zeocin 筛选 (PIC9K 操作麻烦一点, 大肠用 amp 抗性, 而毕赤酵母先用 His 缺陷筛选阳性克隆, 在利用 G418 筛选多拷贝), 而且对于大小合适

(30—50KD) 的蛋白在产量上是 pPIC9K 无法比拟的。

leslie: 要做毕赤酵母表达实验, 首先当然就要了解这个可爱的酵母了 (椭圆形, 肥嘟嘟的, 十分可爱), 她和大肠杆菌长得有较大区别 (大肠杆菌是杆状的), 因此在培养的过程中要区别这两种菌体, 除了气味, 浓度, 颜色以外, 也可以取样到显微镜中观测。大家做毕赤表达的时候应该都遇过这种情况吧, 表达过程中染菌 (我们实验室曾经污染过各种颜色形状的细菌, 那真是一段可怕的经历), 如果在不知情的情况下继续做下去, 那可以就是浪

费大把的时间了。

基本熟悉了毕赤酵母, 了解了她生长的喜好 (多糖偏酸环境), 生长的周期等等情况后, 当然更多的精力还是应该花在表达的目的蛋白上, 我的表达蛋白有些恐怖, 有 100KD, 本来当然应该放在大肠杆菌中表达, 但是为了分泌表达 (其实后来发现大肠杆菌 pET 系列分泌表达系列也不错) 和糖基化修饰 (主要是这个方面, 因为我的蛋白是人源的, 表达出来用于酵母双杂, 因此需要有完备的糖基化修饰)。这样我的 DNA 片段由于较长, 所以在做克隆的时候也要非常小心, 需要注意的是:

①酶切位点不能出现在目的 DNA 片段中——如果片段长无法避免, 可以采用平末端连接;

②虽然  $\alpha$ -factor 可以自动切除, 但是在设计表达的时候, 如果在 N 端不能出现任何多余的 aa (比如药物蛋白表达), 需要特别留意 (说明书上有详细说明: P13);

③有三种不同的读码框 (对于 pPICZ $\alpha$  系列来说就是对上  $\alpha$ -factor 序列), 在设计克隆的时候要反复确定自己的读码框是否正确, 这可是致命的问题;

④无论 pPICZ 还是 pPICZ $\alpha$  都有 TGA (终止密码子), 但是 pPICZ 系列没有 ATG (起始密码子), 有人认为酵母启动子与外源基因的 ATG 之间的距离越短对于表达的该基因越有利;

⑤如果不希望有 c-myc 和 His-tag, 可以在基因片段末尾加入终止密码子;

⑥Pichia 的密码子与酿酒酵母的相似, 有关基因表达偏好密码子的问题有人认为没有必要更换, 有人认为一定要换, 个人认为以产量为主要目的可以考虑更换基因密码子, 而如果片段过长就比较麻烦, 不过有许多真核保守蛋白其实是和酵母密码子相似的;



⑦克隆菌株需要有 **recA**, **endA**, 试剂盒带有的 **TOP10** 挺好用的(其它像是 **DH5 $\alpha$**  都行), 但是要注意带有筛选抗生素 **Zeocin** 的培养基要用低盐培养基(**NaCl** 减半), 这主要是因为怕影响到抗生素作用(**Zeocin** 平板要避光保存);

⑧测序引物可以用  **$\alpha$ -factor** 信号引物, 也可以用 **5'AOX1** 引物;

⑨如果需要高量表达, 可以考虑做克隆的时候串联基因片段进行表达, 另外也可以在转化酵母的时候重复转化。

⑩目的基因中最好不要含有 **pro-glu-ser-thr** 这样的序列, 因为这个序列是激活蛋白水解酶的作用底物, 会影响表达, 另外也不要含有 **x-phe-x-arg-gln** 和 **gln-arg-x-phe-x** 这样的序列(**x**=任何氨基酸), 因为这些序列容易受到溶酶体的切割, 而且目的蛋白末端最好是 **ala, asp, val, ser** 这样的氨基酸。除此之外许多高 **A+T** 含量的基因通常会由于提前终止而不能有效转录, 也需要多加注意。

第二步就是将线性化的 **DNA** 转化入 **Pichia** 酵母中。

**Xiang Yang**: **EasySelect** 试剂盒准备了三种菌株: **X33**, **GS115** 和 **KM71H**。我倾向于选择 **X33**, 因为这个菌株转化率和表达量相对而言较高, 如果你有电转仪(**electroporator**), 可以尝试一下。如果没有的话, **EasySelect** 也准备了化学转化试剂——**EasyComp Transformation**, 但是由于转化率的缘故, 我建议使用电转仪。

**leslie**: 在得到了正确的序列之后就可以准备转化毕赤酵母了, 试剂盒携带有的是 **X-33**, **GS115** 和 **KM71H** 这三种毕赤酵母(另外常用的还有 **SMD1168**), 每种酵母的特点

有些不尽相同(**Manual** 上写的很清楚), 其中 **X-33** 由于是野生型, 因此耐受性比较好, 如果担心转化率的话可以考虑这种酵母菌, 而 **GS115** 与 **X33** 一样都是属于 **MUT+** 表现型, 也就是说可以在含甲醇的培养基中快速生长, 但是据说会对外源基因表达有影响, **KM71** 是 **MUT-** 型酵母, 在甲醇培养基中生长缓慢, 但是也有利于翻译后加工, 比如形成二硫键, 糖基化等等, 另外 **SMD1168** 则是基因组中的 **Pep4** 基因发生突变, 造成蛋白水解酶活性的丧失, 可以保护表达产物免受降解, 促进表达量的提高。

一般来说, 如果是胞内表达, 应尽量用 **Mut-** 细胞, 这样得到的蛋白产物中醇氧化酶蛋白量较少而目的蛋白量相对较多(约占 **Pp** 总分泌蛋白量的 **30-90%**, 如人乙酰胆碱酯酶 **B** 变异链的含量占到 **90%**, 使下游纯化更易进行。而对于分泌蛋白的表达, 无论是甲醇利用慢 (**Mut-**) 还是甲醇利用快 (**Mut+**) 的细胞都可应用, 如在人血清白蛋白(**HSA**)(为分泌型蛋白)的表达中就看不出两种类型的细胞之间有什么明显差别。

所以一般手册都会建议同时在这几种菌株中进行转化, 这主要是因为不同的基因在不同的酵母菌中可能表达量截然不同, 因此在最开始的时候建议多用几种酵母菌实验。

另外有个保存问题, 原始酵母菌一定要保存好, 因为酵母在传代多次后会影响到其转化率和表达量, 所以一方面分多管分装保存于 **-80 $^{\circ}$ C**, 另一方面如果出现了转化或者表达的问题, 在其它方面都没有出错的前提下可以考虑重新取出新菌液(每次都要涂平板挑菌)。

在准备酵母菌的同时也需要准备质粒, 由于酵母菌转化对转化质粒的要求较高, 量也较

大 (5-10ug)，因此许多时候都会用 PEG 大提质粒，或者用大提试剂盒，总而言之要准备好足够量的质粒，并且不要忘记也要同时准备空载体以做对照。在转化前质粒需要进行线性化，这主要是为了增加重组率 (EasySelect 试剂盒表达量高的一个重要原因也就在于其原理是将目的片段整合到载体上，大大的增加了目的片段的表达)。线性化位点个人认为也会影响表达量，对于基因片段不大的蛋白可以考虑用几个线性化位点同时进行转化筛选，但是如果片段大，就有可能供选择的机会少，而且也有可能遇上没有合适的线性化位点的情况，这个时候也不是说不能进行表达，但是准备的质粒就要增加 10 倍，另外也可以进行部分酶切 (即先进行预实验，掐定时间和酶量保证被切开的质粒有部分是在线性化位点切开而基因片段保存完好)。

在线性化之后的质粒就可以酒精沉淀回收了——中间步骤需要使酶失活，说明书建议是热失活或者 EDTA，个人认为前者比较好，主要是担心 EDTA 对于转化的影响，另外这三种酶失活的温度都是 65℃/20min。沉淀回收之后是离心 10 分钟，用 80% 的酒精洗涤后风干，这一步需要多加注意保证风干完全，因为有实验证明残留的酒精对于转化的影响颇大。

接下来就是酵母转化了，这是令许多人头疼的一步，也是影响实验决定表达的关键步骤。转化方法有不少，例如电转，化学转化，原生质体转化，其方法的难易程度和转化率高低呈反向递减的，也就是说电转最容易，转化率较高 (但要求有电转仪)，而原生质体最麻烦，而且效果不好 (比较传统)，因此不建议使用，EasySelect 说明书上这么建议，并且也详细说明了电转，化学转化 (EasyComp

和 LiCl) 方法的过程，可以按部就班。需要注意的是：

### (电转过程)

①最好每次都从平板上挑酵母菌，用培养过的酵母放置时间不要超过一个星期；

②扩大培养的浓度一定要控制好，个人认为不需要 OD600 达到 1.3-1.5，1.0-1.3 的就好，这个时候的酵母比较新鲜，转化率比较高；

③整个感受态制作过程中一定要在冰上操作，离心最好也用冷冻离心机，这是影响转化的关键——为了保证这一点，无菌水可以是冰水混合物，另外山梨醇和电转杯都要预冷；

④电转仪需要预热，所以准备感受态的时候就可以把电转仪打开了，电转后山梨醇的加入要快，曾有人做实验证明晚一秒就会降低转化的数量级，虽然不一定可信，但是我也认为这个过程要快，电转后可以看看时间，如果时间过短 (比如 <4) 就可能说明杂质较多，会影响转化率；

⑤转化后温育是个增加同源重组，增加存活率的过程，需要注意不要感染了大肠杆菌，再加入培养基 30℃ 摇一段时间，可以取部分涂板 (不同浓度抗生素)，或者也有人将菌短暂离心，弃去上清，剩余全部涂板以保证转化率。

### (化学转化)

如果没有电转仪，LiCl 转化是一种可供选择的方法，转化率是 102 到 103cfu/ug。

主要过程为：取过夜活化培养的菌液按 1: 1000 接种于 15ml 新鲜的 YPD 液体培养基，30℃ 培养至 OD600 达到 0.8-1.0；4℃，

4500rpm 离心 5 分钟，用 8ml 冰预冷的无菌水洗涤菌体，倾除洗涤液，用 1mL，4℃，4500rpm 离心 5 分钟，沉淀用 50μl 冰预冷的 100mmol/L LiCl 悬浮，最后定容至 80-90ml。LiCl 转化 取适量单链蛙精 DNA (2mg/mL) 煮沸 5min，立即置于冰上备用，取上述制备好的感受态细胞 12 000rpm，离心 15s，吸弃 LiCl 溶液，按顺序依次加入

50%PEG 240ml

1mmol/L LiCl 36 ml

单链蛙精 DNA 25ml

线性化质粒 DNA 10 ml (约 10mg)

用吸头反复吹打，使细胞沉淀与加入的溶液混匀，30℃静置温育 30min，42℃热击 20-25min，4500rpm 离心 10min，吸弃转化液，细胞沉淀加 1ml YPD 培养基于 30℃ 200 rpm 培养 2-4hr，取转化混合液 100ml 涂布含 100μg/mL Zeocin™ 的 YPDS 平板，30℃ 培养 2-3 天。

### 第三步——挑克隆筛选

Xiang Yang: 在 protocol 中用了许多篇幅来指导这一步，包括如何去通过平板筛选，观测生长速率来确定 Mut 表现型等。这个过程需要 3 到 5 天，而我一般只用了 4 个小时进行 PCR (AOX 引物) 筛选。

leslie: 完成转化后就是克隆鉴定的过程了，包括高拷贝筛选，PCR 鉴定和表型鉴定的过程，其中我做的比较多的是 PCR 鉴定(因为比较快)，具体过程 protocol 上说的很清楚，其实也很简单，就是冻融破菌进行菌落 PCR，但是其中许多具体细节问题也挺让人头痛的，第一就是破壁的问题，许多人用 PCR 方法进行鉴定都无法得到结果，甚至在表达出了以后还是无法得到这张鉴定图片，主要原因之一就是无法正常释放酵母基因组，一般通过

培养菌然后进行沸水和-20℃冷冻循环过程裂解细胞在目的蛋白片段比较合适的范围以内是可以得到好的结果的，但是有时候片段过长，模壁就会阻碍扩增，所以我们实验室会用蜗牛酶(很便宜的酶来的)来帮助溶菌，我看许多实验室也会这么做，不过加入的时间不同而已，其次也有奢侈的用试剂盒的。

第二就是是模板量，个人建议模板真的不要加太多了，按照说明书的上的 5ul 我觉得还是多了，而且建议总体积不用这么大，当然加入模板的量也与自己培养菌的浓度以及用来冻融的菌数量有关。其次是假阳性和假阴性结果，在 Mut-和 Mut+情况是不一样的，如果用的是 5'AOX 引物，KM71H 会出现 3.6kb 的片段，而 Mut+则会出现 AOX1 基因原本长度的片段——大约长 2.2kb，因此如果的基因片段长度相似，要注意区分。建议 PCR 过程中使用多对引物进行反应，包括自己基因的，α-factor 的，5'AOX 的，都可以，反正各种对照多了有利于比较——当然前提是你不能晕了头。

掉了毛的鸵鸟:巴斯德毕赤酵母包含醇氧化酶-1(AOX1)基因的启动子的转录终止子(5'AOX1 和 3'AOX1),他们被多克隆位点分开,外源基因可在此插入,此外,载体中还包含组氨酸脱氢酶基因(HIS4)选择标记(HIS4 区的整合方式为位点特异性单交换引起的基因插入,整合后使组氨酸缺陷型宿主(his4)恢复野生型.HIS4 区或 AOX1 区位点的整合都使转化子具有 HIS4 基因,因而可利用表型差异进行筛选,酵母 GS115 具有组氨酸脱氢酶缺陷型基因 his4,可接受含 HIS4 的载体而具有 HIS+表型以筛选转化子.)及 3'AOX1 区,当整合型载体转化受体菌感受态细胞时,他的 5'AOX1 和 3'AOX1 能与染色体上的同源基因



重组,从而使整个载体和外源基因插入到受体菌染色体上,在加入甲醇作为唯一碳源的培养基中,外源基因在 5'AOX1 启动子的控制下表达.在载体中引入 Tn903Kanr 基因(抗 G418)有助于筛选高拷贝转化子,转化子的拷贝数与抗 G418 的能力有关,通过筛选抗 G418 能力强的酵母即可获得高拷贝转化子.外源基因是以同源重组的方式插入到酵母菌的染色体中,因此不易丢失,多次传代后酵母仍能稳定表达外源蛋白,具有良好的遗传稳定性.

#### 第四步——表达

**Xiang Yang:** 将你的克隆在 YPD 培养基中培育到 OD600 值达到 6.0, 就可以离心收菌。用表达培养基(比如 BMMY)重悬沉淀, 在 30°C 培育过夜。

**leslie:** 筛选鉴定出自己的重组子可以说什么都不能证明, 还是要看这一步的酵母表达, 有许多人在酵母表达上花费了大量的时间——不同于大肠杆菌的两天出结果, 一次毕赤酵母的表达就需要起码一周的时间, 筛选了上百上千的克隆, 但是仍然是竹篮打水一场空, 我个人建议如果在筛选完 3 批以上就可以放弃这一批转化的酵母菌, 另外调整进行重新转化。

另外刚开始的时候可以用小量表达, 可以用 5ml: 生长慢型, 生长快型, 阴性对照(空质粒), 阳性对照(可以是曾经表达成功的重组子)和没有进行转化的酵母菌的单克隆, BMMY 中培养到 OD 值 2-6, 离心收菌(如果怕污染或者麻烦, 可以放置酵母菌一段时间, 一半为 20-30 分钟, 让菌沉淀下来, 小心倾倒入去上清培养基获得菌), 转入 BMMY 中诱导表达, 这些步骤都需要在超净工作台里进行, 如果要区分是否染菌, 可以取一些到显微

镜下观察, 或者闻气味(酸甜的是酵母), 观颜色(乳白色的是酵母)。除此之外, 如果是小量表达, 有可能会在没有达到 4 天的时间培养基就干了, 所以可以适当补充一些, 以及在摇床里放置盛有无菌水的深口瓶, 来保持摇床里湿度。

诱导物甲醇注意要在超净台中打开, 可以分装到灭过菌的瓶子中——当然甲醇是不能灭菌的, 而且也要注意在用酒精灯过甲醇瓶口的时候要小心, 如果真的引起爆炸那就损失太大了。另外如果觉得每天添加甲醇麻烦, 也有人用一次性注射器透过纱布添加甲醇, 这个方法可能会造成染菌, 慎选。说到纱布就想到了通气性问题, 酵母在无氧和有氧的情况下都可以存活, 但是在甲醇诱导的情况下毕赤酵母用的是醇氧化酶, 自然氧气量对于这一基因的表达影响重大, 但是由于害怕感染大肠杆菌, 纱布裹的也不能太少, 最好专辟出一个摇床进行三十度酵母表达, 这样可以考虑将纱布减少到 3—5 层, 同时需要注意的是摇瓶内菌液体积不要超过 10-30%。

每天取样出来进行 SDS-PAGE 电泳鉴定, 能这样最好, 不过每天做胶跑胶染色真的很麻烦, 可以汇集一批同时跑, 不过样品一定要煮过冻存, 而且每次取样不要反复冻融, 最好分装保存——因为蛋白经煮沸变性会不稳定, 容易降解。另外为了防止蛋白在分泌出来的过程就降解了(特别是小分子蛋白), 也可以通过调节培养基 pH 值抑制蛋白水解酶的活性(这一方面说明书讲解得详细), 还可以加入酪蛋白氨基酸等保护物质, 竞争性抑制蛋白水解酶的活性来防止表达产物降解。

如果使用的是分泌型培养基, 按道理收集培养基上清就可以进行下一步分析了, 但是由于培养基中的蛋白浓度 PAGE 胶一般是检测

不出来的——除非你的表达蛋白量非常大。所以需要进行浓缩，方法有TCA法，硫酸氨盐析，PEG沉淀，透析，超滤等等，当然最简单的就是煮沸蒸发水分浓缩了。另外跑胶的时候同时对照酵母胞内蛋白，以防没有分泌出来。

SDS-PAGE的配置参见分子克隆，注意你的蛋白大小与胶的浓度的对应性，如果小到20kD以下，可以考虑用tricine胶，不过是个需要全盘重新准备的过程，要考虑清楚。如果选用的载体是带有信号肽的，虽说是分泌表达好纯化，但实际上毕赤酵母本身还是有本底表达的，而且有时候会造成假阳性，所以最后表达过程需要用Western blot或者ElaSa，通常都是用WB，具体的细节可见Western Blotting前传：想成为高手吗？系列文章，另外要提一句的是，如果本身蛋白没有合适抗体（如果是利用从大肠表达出来的蛋白做出的抗体也有可能用真核系统表达出来的蛋白无法发生免疫作用），可以选用anti-myc或者anti-his的，前提当然是你的蛋白没有提前终止。

其它在表达中可能出现的情况包括表达量低，没有分泌表达（针对pPICZa系列），头两天蛋白量较大，无法重复，表达出来的蛋白偏大等等，需要分各个方面分析原因，比如蛋白明明加上了信号肽，但是就是无法分泌出来，这可能是蛋白结构在通过细胞膜的时候受到了阻碍，可能需要重新转化，更换线性化位点或者更换菌株；如果蛋白表达第一天较高，但是之后越来越少，这很有可能是蛋白降解了或者产生了竞争表达；毕赤酵母无法重复的问题比较严重，许多情况下在第一次获得了高量表达之后就再怎么重复不了这个结果，遇到

这种情况真是令人非常痛苦，可是除了重新摸索条件还能怎么样呢？而表达出来的蛋白分子量偏大则是个正常现象，除了糖基化以外还有其它原因，比如二聚体，这些需要进行WB或进一步实验验证。

### 第五步——发酵和产物纯化

Xiang Yang: 我用的是 HisTraP

Columns（GE Healthcare），经过简单的纯化之后我可以得到90%的目的蛋白。我的蛋白是一个大小为45kDa，可以通过二硫键形成反向平行二聚体（antiparallel homodimer）的糖蛋白，经过纯化，我通过一个细胞增殖实验（cell proliferation assay）检测了其活性，结果表明表达出来的蛋白在体外有完全的活性。并且我也在体外利用受体分析了蛋白结合活性，与对照（通过大肠杆菌和Bacular 细胞未带tag的蛋白）相比，his-tag有一点副作用。

伊可丽：由于在摇瓶培养中巴斯德毕赤酵母表达外源蛋白的水平往往不能准确地反映罐发酵中的表达情况，使之成为令人头痛的问题。主要原因是在摇瓶培养中，培养液的pH值无法控制，培养物通气不充分及无法控制添加碳源的最适速率。但是为了避免对每一个表达菌株进行繁琐的发酵罐培养条件的实验，仍需摸索表达菌株的摇瓶培养条件，使其产物的表达量与预期的发酵罐培养结果相近。

总而言之，EasySelect 系统是一个便于操作的酵母表达系统，我已经使用这一系统表达过15个类似物了，每一个我都获得了超过1mg/1升培养液的纯化蛋白。（生物通：亚历）