

一、研究前沿：

《Cell》《科学》两篇文章揭示干细胞研究最新突破

《自然》公布第一张致命疾病研究蓝图

罗雪莲博士最新《Cell》文章解析关键细胞周期过程

300 个人类新基因被发现

王成树博士最新《自然》子刊：以毒助毒

《BMC基因组学》：葡萄熟了

《自然》癌症研究突破：独特的新因子

二、中国研究：

长江学者最新《Neuron》文章

南方医科大学等《科学》文章解析细胞生长调控

北大等《PNAS》文章发表神经学研究进展

三、焦点关注：

《自然》最新封面聚焦干细胞技术热点

"万能细胞"制造者俞君英:得诺贝尔奖?很有可能

中外科学家热议人体皮肤细胞研制类胚胎干细胞的成功

成体干细胞能否干过胚胎干细胞?



四、07 中国细胞生物学学会专题：

张雅鸥教授microRNA研究取得新进展

07 候选院士聚焦细胞生物学前沿研究

孟安明教授研究组斑马鱼神经干细胞研究新进展

王红阳院士肝癌早期诊断获重大突破

厦大杨玉荣等：RNAi技术研究线虫寿命因子

宋今丹教授研究组：大肠癌单克隆抗体研究

重庆大学、第三军医大毛囊干细胞研究新进展

五、技术前沿：

《自然》子刊：RNAi技术新应用

自然-方法学：识别miRNA靶标新方法

蛋白功能研究新趋势：体外表达产品(上)

蛋白功能研究新趋势：体外表达产品(下)





《Cell》 《科学》两篇文章 揭示干细胞研究最新突破

生物通报道：在最新一期的《Cell》和《科学》（11月22日在线版）杂志上，分别来自日本和美国的两个研究组通过独立研究，首次利用人体表皮细胞制造出了类胚胎干细胞。这一技术有望用于特定疾病的干细胞研究和治疗，并且避开了利用晶胚或卵母细胞获得胚胎干细胞的伦理争议。

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

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

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

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

Yamanaka 小组利用此前的4种基因副本——Oct3/4, Sox2, c-Myc 和 Klf4, 导入方

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

美国加州再生医学研究院的 Richard Murphy 评价说，Yamanaka 博士和他的研究组创造了干细胞领域的又一个极其重要的贡献。他们的结果为制造多功能细胞的替代资源用于人类患者开启了一道大门。但是，目前仍然还需要彻底分析和了解这些诱导的多功能细胞的能力到底有多大。

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

来自威斯康辛的 Thomson 小组则独自确定了14种新的候选重组基因。通过系统的排除过程，他们最终也使用了4个基因 OCT3, SOX2, NANOG 和 LIN28, 其中前两个和 Yamanaka 小组是相同的。Thomson 和同事利用的是胎儿皮肤细胞以及一个新生儿的包皮细胞。与 Yamanaka 小组相比，这项研究需要1万个细胞才能分离出一个 iPC 细胞系，但对实验而言已经足够了。利用新的程序重调技

下转 P3 页



《自然》公布第一张致命疾病研究蓝图

生物通报道：来自世界上最杰出的健康科学研究的科学家们和科学组织公布了一项针对人类最致命疾病的 20 项重要的措施，这一首张慢性、非传染性疾病的研究蓝图将有助于指导慢性致死疾病的研究及治疗，这一“Feature”文章发表在《Nature》杂志上。

这些全球性的慢性、非传染性疾病包括心血管类疾病（主要是心脏疾病及中风），几种癌症，慢性呼吸器官疾病（chronic respiratory conditions），以及 II 型糖尿病。

在这篇发表《Nature》杂志上的文章，19 位作者（见附录）认为慢性、非传染性疾病：

- 造成全球最大份额的死亡和伤残；
- 导致了全球 60% 的死亡，其中五分之四来自低收入和中等收入国家；
- 是 HIV/AIDS，肺结核，疟疾，母体和 peri-natal conditions 和营养缺乏症死亡总数的两倍。

研究人员利用结构性 consensus-building“Delphi”技术创建了“慢性、非传染性疾病的重大挑战（Grand Challenges in Chronic Non-Communicable Diseases, CNCDS）”——一项从候选人中精心挑选出来的，来自 50 个国家的 155 名成员的意见汇编而成的建议书。

作者表示，这一结果是包含 20 项最重要的挑战的一份权威性列表。WHO 定义 CNCDS 为心血管疾病，II 型糖尿病，慢性呼吸性疾病和某些癌症，预计消除一些关键因素（不健康饮食，不运动和抽烟）将可以组织 80% 的心脏病，中风和 II 型糖尿病，以及 40% 以上的癌症。这一项目的发起人表示他们的目的是“刺激健康、科学和公共团体关注这些方面”，

并引起全球的讨论以及资助。

领衔参与单位包括加拿大多伦多大学和
健康网络大学 McLaughlin-Rotman 中心

（McLaughlin-Rotman Center），英国牛津健康联盟（Oxford Health Alliance），美国国立卫生研究院（the National Institutes of Health, NIH）等。

这 20 项重大挑战（见附录）可以归总为 6 个主要目的：

- 调整健康体系（比如“Allocate resources within health systems based on burden of disease”）；
- 减少贫穷和城市化带来的健康影响（比如“Study and assess how poverty increases risk factors”）；
- 组织商业行为和社团行为参与（比如“Make business a key partner in promoting health and preventing disease; Develop and monitor codes of responsible conduct with the food, beverage and restaurant industries”）；
- 缓解危险因素（比如“Deploy universally measures proven to reduce tobacco use and boost resources to implement the WHO framework Convention on Tobacco Control”）；
- 增强经济，法律和环境相关政策（比如：“Study and address the impacts of poor health on economic output and productivity”）；
- 增加公众及政治的了解程度（比如“Promote healthy lifestyle and consumption choices through

• ective education and public engagement”）。

CNCDs 重大挑战补充了 2003 年，由 Bill & Melinda Gates 基金会等成员公布的“Grand Challenges in Human Health”，后者主要聚焦于传染性疾病，尤其是发展中国家的传染性疾病。

伊朗伊斯法罕大学医学院（Isfahan University of Medical Sciences）的 Nizal Sarrafzadegan 教授表示，“如果缺乏正确的行为指引，未来 10 年里，3 亿 8 千 8 百万的人将死于 CNCDs 中一项或多项内容”，“通过这一协商行动，到 2015 年，过早死亡的数量将减少至少 3 千 6 百万——这几乎相对于加拿大，阿尔及利亚或肯尼亚的人口总数了”。

上接 P1 页

术，威斯康辛研究组发展出 8 个新的干细胞系，而且其中一些细胞系已经培养了 22 周的时间。该成果将发表在 12 月 21 日的《科学》杂志的印刷版上。

前 WHO 主席（慢性疾病和健康促进部门）

Robert Beaglehole 则针对 CNCDs 经济方面的影响提出，除非现在就采取重视认真的行动，否则未来十年里，中国，印度和英国由于心脏病，中风和糖尿病将分别丧失 5580 亿美元，2370 亿美元和 330 亿美元。

牛津大学，牛津健康联盟主席 John Bell 教授也表示，“虽然这些挑战是面向所有国家的，但是不同的国家也需要结合当地的情况，这是由疾病来源和模式的不同决定的。”（生物通：张迪）

原文检索：Nature 450, 494-496 (22 November 2007) | doi:10.1038/450494a; Published online 21 November 2007 Grand challenges in chronic non-communicable diseases [[Abstract](#)]

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



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

免费服务热线：800 820 2606

技术支持信箱：macs@miltenyibiotec.com.cn, miltenyibiotec@china.com

公司英文网站：http://www.miltenyibiotec.com/

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



罗雪莲博士最新《Cell》文章 解析关键细胞周期过程

生物通报道：来自德州大学西南医学中心（UT Southwestern Medical Center）药理学系，生物化学系的研究人员在细胞周期研究过程中获得了重要的细胞分裂调控基因Mad2（有丝分裂阻滞缺陷蛋白 2，mitotic arrest deficient protein 2）与p31^{comet}复合物的晶体结构，从而揭示出p31^{comet}作为一种“anti-Mad2”利用Mad2的两种状态行为抑制了其活性。这对于了解细胞周期纺锤体检测点的调控，以及细胞因子的相互作用提供了重要的信息。这一研究成果公布在《Cell》杂志上。

文章的通讯作者是德州大学西南医学中心的罗雪莲博士，其早年毕业与北京大学，现任德州大学西南医学中心药理学系副教授。

细胞周期的运转主要是各种 cyclin 和 CDK 在不同时相的相互作用下推动的。p53 对细胞周期的阻滞就是通过其下游靶基因表达产物与各种 cyclin 和 CDK 相互作用来实现的。有丝分裂阻滞缺陷蛋白 MDA1 可与 Cdc20 竞争性结合 MDA2，释放出 Cdc20，促进 APC (anaphase-promoting complex) 的活化。APC 与微管直接相互作用并促进微管聚合，形成纺锤体，促进细胞从 G2 期进入 M 期。p53 上调 GADD45 的表达，抑制 MAD1 的表达，二者协同，将细胞周期阻滞在 G2/M 期。

其中纺锤体检测点信号的状态依赖于两个相互对立的动力学过程之间的平衡，即对细胞分裂调控基因 Mad2（有丝分裂阻滞缺陷蛋白 2，mitotic arrest deficient protein 2）高度不寻常的两种状态行为的调控。在有丝分裂过程中，一个 Mad1-Mad2 核心复合物通过 Mad2 的聚合作用捕捉胞质中 Mad2，释放出 Cdc20，从而促进检测点活性。

之前的研究发现一种细胞因子p31^{comet}能通过结合到Mad1 或Cdc20 上抑制检测点，导致Mad2 活性被降低，促进了Mad2-Cdc20

复合物的分离。在这篇文章中，研究人员报道了Mad2-p31^{comet}复合物的晶体结构，从中研究人员发现Mad2 C末端区域——负责不同 Mad2 conformers 的重新排列——是p31^{comet} 绑定的一个主要结构决定因素，这解释了 p31^{comet} 针对Mad1-或Cdc20-bound Mad2 的特异性。

并且研究人员也发现p31^{comet} 折叠与Mad2 十分相似，p31^{comet} 也与Mad2 二聚相互作用有关。因此研究人员认为p31^{comet} 作为一种“anti-Mad2”利用Mad2 的两种状态行为抑制了其活性。（生物通：张迪）

原文检索：Cell, Vol 131, 744-755, 16 November
2007 p31^{comet} Blocks Mad2 Activation through
Structural Mimicry [\[Abstract\]](#)

p53 如何阻滞细胞周期？

细胞周期的运转主要是各种 cyclin 和 CDK 在不同时相的相互作用下推动的。p53 对细胞周期的阻滞就是通过其下游靶基因表达产物与各种 cyclin 和 CDK 相互作用来实现的。

hCDC4b 蛋白是泛素连接酶 SCF 复合体中四个亚单位之一。SCF 复合体介导在细胞由 G0 期进入 G1 期时发挥关键作用的 cyclin E 的降解。通过上调 hCDC4b 的表达来负性调

节 cyclin E, p53 将细胞周期进程阻滞在 G0/G1 期。

p21 蛋白是 CDK2、CDK4 的抑制子，与其结合，阻止 Cyclin E/Cdk2、Cyclin D1/Cdk4 复合物形成，RB 不能被磷酸化，从而阻止转录因子 E2F 从复合物 RB/E2F 中解离；p21 也可直接与 E2F 或增殖细胞核抗原 PCNA 结合。p53 上调 p21 的表达，从而抑制了 DNA 复制及细胞周期继续运转所需基因的表达，将细胞周期阻滞在 G1/S 期。

p53 上调 p21 的表达还有其他的作用。继上调 p21 的表达之后，p53 始能下调 Bcl2 等基因的表达。若敲除了 p21 基因，活化的 p53

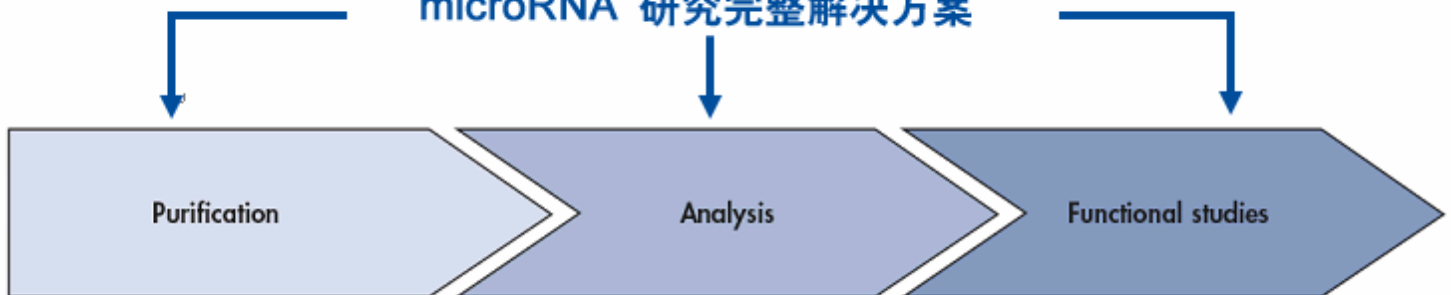
不再下调任何下游靶基因的表达。

GADD45 (growth arrest and DNA damage 45) 蛋白作用于 CDK1, CDC2, 阻止复合物 Cyclin B1/Cdk1 的形成，同时造成 Cyclin B1 的核外运和降解，结果纺锤体不能形成或不能移动，阻止细胞从 G2 期进入 M 期。有丝分裂阻滞缺陷蛋白 MDA1 可与 Cdc20 竞争性结合 MDA2，释放出 Cdc20，促进 APC (anaphase-promoting complex) 的活化。APC 与微管直接相互作用并促进微管聚合，形成纺锤体，促进细胞从 G2 期进入 M 期。p53 上调 GADD45 的表达，抑制 MDA1 的表达，二者协同，将细胞周期阻滞在 G2/M 期。



QIAGEN solutions for advancing microRNA research

microRNA 研究完整解决方案



miRNeasy Mini Kit

miRNeasy 96 Kit

miScript Reverse Transcription Kit

miScript SYBR® Green PCR Kit

miScript Primer Assays

HiPerFect Transfection Reagent*

Coming soon:

miRNA Inhibitors†

miRNA Synthesis†

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

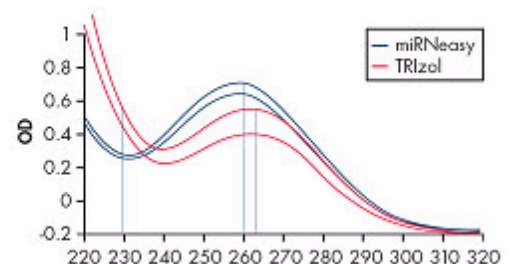


图1 高纯度RNA纯化，无苯酚污染



300 个人类新基因被发现

生物通报道：通过利用超级计算机比较人类和其他哺乳动物基因组部分，来自康奈尔大学的研究人员发现了 300 个之前没有确定出的人类基因，并且还发现了几百个已知基因的范围。

这些发现是基于一种特殊的理论：当有机体进化时，对有机体有用的遗传密码部分以不同的方式发生变化。研究人员将这项研究的结果发表在近期网络版的《Genome Research》。

完整的人类基因组在几年前已经完成了测序，但这只是表示人们知道了构成遗传密码的碱基序列而已。人们还需要确定出所有编码蛋白质或履行调节功能等的 DNA 序列的确切位置。

尽管目前已经确定出了超过 20000 个蛋白质编码基因，但康奈尔的这项发现证实，仍然有许多基因用目前的生物分析方法被漏掉了。这些方法对发现广泛表达的基因是非常有效的，但却会漏掉旨在特定气管表达或在胚胎发育早期表达的基因。

研究组利用进化观点来确定这些基因。研究人员表示，进化做这种实验已经有数百万年的历史了。计算就是看到这些结果的“显微镜”。

领导这项研究的 Siepel 和同事准备照出自阿进化上保守的基因，这些基因对所有生命都是至关重要的，并且其形式相同或非常相似。

利用大规模的计算机组，研究人员运行了三种不同的程序来比较这些已由其他研究人员发现的存在于人类、小鼠、大鼠和小鸡的联合阵列。

从构建和检测数学模型到最终运行程序的整个计划大约进行了 3 年。最终，他们发现了 300 个新的人类基因。

此前，由来自 16 个国家的超过 100 个研究机构的数百名科研工作者合作进行的一项大型研究计划测序和比较了 12 种果蝇的基因组。这项计划获得的数据使研究人员对果蝇的了解前进了一大步。但是，即使是人类基因组生物学家也还是会写下这样的记录：这项计划还揭露出了他们鉴定基因过程中的明显的缺点、不足。

来自美国印第安纳大学的 Thomas Kaufman 表示，近年来研究人员已经取得了基因组研究的巨大进步，但是只靠将数据输入计算机来得到序列“真相”的方法却解决不了很多问题。这项新的大型研究告诉了我们这样一件事：当比较许多不同但相关的基因组时，你更可能“看到”深埋在所有 A-C-T-G 碎片中的基因。

《自然》杂志上发表的两篇该计划的研究报告，给出了这个为期四年的基因组计划的结果，并根据这些数据作出有关果蝇的一些结论。在这两篇论文的结论中隐含了这样一个观点：分析任何单个物种的基因组时，将其与相关基因组进行比较能够极大提高鉴定的效率。研究人员表示将有超过 40 个“同伴”草图被公布，而每个草图则分析了 12 个果蝇基因组数据的一个不同的方面。（生物通雪花）



王成树博士最新《自然》 子刊：以毒助毒

生物通报：来自中科院植物生理生态研究所（Institute of Plant Physiology and Ecology）与美国马里兰大学昆虫学系的研究人员发现了一种能促进杀虫剂毒力的神经毒素，为这种杀虫剂的应用，以及研究真菌杀虫剂作用机理，真菌-昆虫相互作用的分子机制提供了重要资料。这一研究结果公布在《Nature Biotechnology》杂志上。

文章的作者分别为马里兰大学的 Raymond J St Leger 教授，以及植生生态研究所的“百人计划”课题组长王成树博士，王成树博士的研究领域主要包括昆虫病原真菌致病基因功能研究、真菌-昆虫相互作用的分子机制、丝状真菌菌种退化、衰老的分子机理和虫草菌发育生物学及活性成份代谢途径。

杀虫剂是一类主要用于防治农业害虫的农药，部分也可用于卫生防疫以及畜牧业和工业原料、产品等的害虫防治。使用历史长、用量大、品种多、防治效果显著。

金龟子绿僵菌(Metarhizium anisopliae)是一种重要的昆虫寄生真菌，属于半知菌亚门绿僵菌属。它对寄主侵染过程包括粘附、孢子萌发、穿透虫体、体内发育和致死。这一过程是附着胞、表皮降解酶和破坏菌素等物质的生理生化作用的综合结果。由于其寄主范围广，致病力强，对人、畜、农作物无毒，无残毒、菌剂易生产，持效期长等优点，因此具有广阔的应用前景。

然而由于这种真菌的毒性较低，影响了其在防治病虫害方面的应用。在这篇文章中，研究人员发现了一种来自黄肥尾蝎

（Androctonus australis）的昆虫特异性神经毒素（neurotoxin）能促进这种真菌杀虫剂的毒性，并解析了这种作用的原理。

他们发现这种特异性神经毒素的高水平表达能增强真菌对烟草天蛾（tobacco hornworm (Manduca sexta)）毛虫 22 倍的毒性，以及针对黄热病蚊（adult yellow fever mosquitoes (Aedes aegypti)）的 9 倍毒性，并且也不会损害宿主的特异性。

这些研究结果为理解真菌杀虫剂作用机理，以及真菌-昆虫相互作用的分子机制提供了重要资料。（生物通：张迪）

原文检索：Nature Biotechnology Published online:
11 November 2007 | doi:10.1038/nbt1357 A scorpion
neurotoxin increases the potency of a fungal insecticide
『[Abstract](#)』

附：王成树

所系名称 植生生态研究所

研究方向 昆虫分子病理学；真菌分子生物学

研究工作

1. 昆虫病原真菌致病基因功能研究：主要以金龟子绿僵菌和球孢子白僵菌为对象，克隆、鉴定并分析虫生真菌在昆虫体表入侵及体内定殖阶段涉及附着胞形成、体壁穿透及抵抗昆虫宿主免疫相关的基因种类及功能；

2. 真菌-昆虫相互作用的分子机制：以激光微切割、高通量测序及基因芯片等技术研究虫生真菌与模式昆虫（家蚕或果蝇）相互作用

时病原-宿主的基因表达特征，探索潜在的基因-基因作用模式；

3. 丝状真菌菌种退化、衰老的分子机理：结合以模式丝状真菌构巢曲霉为对象，从转录组、蛋白组及基因功能研究等水平分析虫生真菌角变化、产孢或虫草子实体产生能力下降或丧失的分子机理；

4. 虫草菌发育生物学及活性成份代谢途径：主要以蛹虫草为对象研究子实体发育的分子调控机理、虫草素等活性成份代谢合成途径等。

获奖情况

1998 年度国家留学基金委资助。

2005 年度安徽省科技一等奖。

个人简介

1989.9-1993.7 安徽农业大学植保系，学士。

1993.9-1996.7 安徽农业大学林学系，硕士。

1998.9-2001.7 中国农业大学微生物系，博士。

1999.8-2000.9 英国 University of Wales Swansea 访问学者。

2001.7-2003.12 英国 University of Wales Swansea 博士后研究。

2004.1-2006.7 美国 University of Maryland 博士后研究。

2006.9- 应聘为中国科学院植物生理生态研究所“百人计划”课题组长，研究员

杀虫剂

主要用于防治农业害虫的一类农药，部分也可用于卫生防疫以及畜牧业和工业原料、产品等的害虫防治。使用历史长、用量大、品种多、防治效果显著。

杀虫剂按作用方式可分类为：

①胃毒剂。经虫口进入其消化系统起毒杀作

用，如敌百虫等。

②触杀剂。与表皮或附器接触后渗入虫体，或腐蚀虫体蜡质层，或堵塞气门而杀死害虫，如拟除虫菊酯、矿油乳剂等。

③熏蒸剂。利用有毒的气体、液体或固体的挥发而发生蒸气毒杀害虫或病菌，如溴甲烷等。

④内吸杀虫剂。被植物种子、根、茎、叶吸收并输导至全株，在一定时期内，以原体或其活化代谢物随害虫取食植物组织或吮吸植物汁液而进入虫体，起毒杀作用，如乐果等。

按毒理作用可分为：

①神经毒剂。作用于害虫的神经系统，如滴滴涕、对硫磷、呋喃丹、除虫菊酯等。

②呼吸毒剂。抑制害虫的呼吸酶，如氰氢酸等。

③物理性毒剂。如矿物油剂可堵塞害虫气门，惰性粉可磨破害虫表皮，使害虫致死。④特异性杀虫剂。引起害虫生理上的反常反应，如使害虫离作物远去的驱避剂，以性诱或饵诱诱集害虫的诱致剂，使害虫味觉受抑制不再取食以致饥饿而死的拒食剂，作用于成虫生殖机能使雌雄之一不育或两性皆不育的不育剂，影响害虫生长、变态、生殖的昆虫生长调节剂等。

按来源可分为：

①无机和矿物杀虫剂。如砷酸铅、砷酸钙、氟硅酸钠和矿油乳剂等。这类杀虫剂一般药效较低，对作物易引起药害，而砷剂对人毒性大。因此自有机合成杀虫剂大量使用以后大部分已被淘汰。

②植物性杀虫剂。全世界约有 1000 多种植物对昆虫具有或多或少的毒力。广泛应用的有除虫菊、鱼藤和烟草等。此外有些植物里还含有类似保幼激素、早熟素、蜕皮激素活性物质。如从喜树的根皮、树皮或果实中分离的喜树碱对马尾松毛虫有很强的不育作用。

③有机合成杀虫剂。如有机氯类的滴滴涕、六

六六、硫丹、毒杀芬等，滴滴涕、六六六曾是产量大、应用广的两个农药品种，但因易在生物体中蓄积，从20世纪70年代初开始在许多国家禁用或限用；有机磷类的对硫磷、敌百虫、乐果等约400个品种以上，产量居杀虫剂的第一位；氨基甲酸酯类的西维因、呋喃丹等；拟除虫菊酯类的氰戊菊酯、溴氰菊酯等；有机氮类的杀虫脒、杀虫双等。

④昆虫激素类杀虫剂。如多种保幼激素、性外激素类似物等（见昆虫激素类农药）。

少数传统药剂，如矿油乳剂等的作用机理

主要在体表起物理杀虫作用，而绝大多数有机合成杀虫剂都进入害虫体内，在一定部位干扰或破坏正常生理、生化反应。进入害虫体内的途径，有的是随取食通过口器进入消化道、渗入血液中，有的是通过表皮，也有的是通过气孔和气管，进入体内的药剂与害虫体内的各种酶系发生生化反应，一些反应使药剂降解失去毒力，但也有些药剂被活化使毒力增强，未被降解（或活化后的化合物）的药剂因作用机理不同而在一定部位发挥毒杀作用，如作用于神经系统或作用于细胞内呼吸代谢过程。

QIAGEN solutions for advancing microRNA research

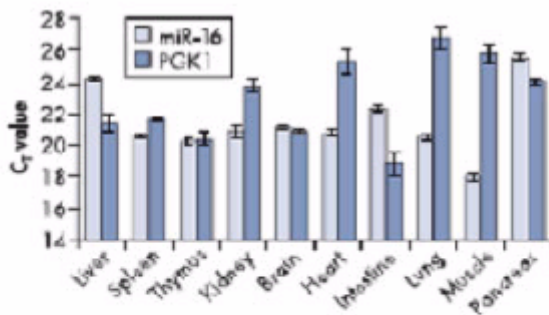


图2 从不同起始量的组织中同时纯化miRNA和mRNA

Total RNA including miRNA was purified from 25 mg of a range of RNA later® stabilized rat tissues using the miRNeasy 96 Kit. Purified RNA was used as a template in quantitative, real-time RT-PCR assays for the miRNA miR-16 and for the larger mRNA of the PGK1 gene. Results showed successful detection of both PGK1 mRNA (large RNA) and miR-16 (small RNA) from the same eluates.

The miScript System

使用SYBR Green based real-time PCR检测各种miRNA, 包含引物miScript Primer Assay、逆转录试剂miScript reverse Transcription Kit、定量检测试剂miScript SYBR Green PCR Kit三个部分，可单独购买。

- 简单、快速地从同一cDNA中检测多种miRNA
- 同一cDNA可用于同时检测miRNA、小RNA和mRNA
- 特异性高，灵敏度高，起始样品低至10pg总RNA
- GeneGlobe 数据库提供人、小鼠、大鼠miRNA特异性引物

The miScript System — miScript Primer Assay

提供miRNA数据库miRBase version 9.0中>95%的人、小鼠、大鼠miRNA对应的正向引物。

- 通过www.qiagen.com/GeneGlobe 检索引物，方便快捷
- 人的primer已经通过实验验证
- 选择灵活，提供单管装或96孔板set

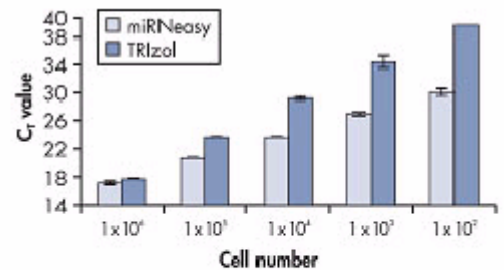


图3 miRNeasy Kit纯化的结果优于TRIzol

Real-time RT-PCR assays for the miRNA miR-16. Results showed that CT values were lower after purification using the miRNeasy Kit, indicating that higher amounts of miRNA were purified than when using TRIzol.

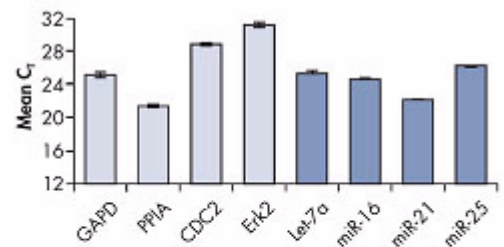


图4单次cDNA合成反应可用于检测多种miRNAs和mRNAs

Total RNA was prepared from HeLa S3 cells using the miRNeasy Mini Kit. The miScript System was used for real-time PCR analysis of 4 miRNAs (Let-7a, miR-16, miR-21, and miR-25). QuantiTect Primer Assays were used for real-time PCR analysis of 4 mRNAs (GAPDH, PPIA, CDC2, and Erk2).



《BMC 基因组学》：葡萄熟了

生物通报道：葡萄是一种常见的水果，其中一些品种专门用做酿酒之用。个人口味不同，或许你喜欢赤霞珠（红葡萄，世界著名的红葡萄酒品种之一），或者是加州葡萄变种。现在，两项公布在《BMC 基因组学》杂志上的两篇新研究论文提供了一系列有关果实成熟的新遗传信息，而果实的成熟对商业价值非常重要。

葡萄的基因表达分析揭示出两个与葡萄的绿色阶段和变红阶段相对应的不同的分子和功能阶段。研究人员公布了首个生物化学证据证实，在颜色过渡期发生着活性氧的累积。

意大利 IASMA 研究中心的 Stefania Pilati 和同事分析了正在成熟的加州红葡萄，以确定出果实成熟基因并研究季节对该过程的影响。他们发现，超过 1400 个成熟特异性基因的表达在三个不同的生长季节中发生相似的波动，其中一小类基因则受到气候条件的强烈影响。

在绿果阶段，大量的与激素信号和转录调节有关的基因被调节——这意味着大规模的细胞代谢过程被重排。生长素、乙烯和光起到关键作用。在之后的成熟期，细胞壁组织和生物发生、糖类和次级代谢和压力应答相关基因则开始起作用。此时，光合作用受到强烈抑制。这些转录事件与果实软化和糖、颜色和香味化合物的积累过程相一致，而这些都决定着最终葡萄的品质。在两个阶段的转折点上，研究人员发现一种与 H₂O₂ 有关的氧化力和抗氧化酶网络的一种广泛的调

整。

与此同时，来自美国内华达州大学和波士顿大学医学院的 Laurent G. Deluc 和同事对 *V. vinifera* Cavernet Sauvignon 进行了进一步的研究，他们分析了葡萄果实发育的 7 个不同的阶段。该研究组确定出，在一系列相关过程中起关键作用的基因的 mRNA 在整个发育过程中发生了显著的变化。相关过程包括有机和氨基酸代谢、光合作用、碳循环和抗病性。

值得一提的是，研究人员记录下来与转录因子表达模式、ABA 生物合成和钙信号基因有关的变化。研究发现，一些 mRNA 在整个成熟过程中发生了明显的增加和减少，并且糖代谢基因模式分析揭示出一种新的、与之前发现的不同的葡萄糖和磷酸丙糖途径。

尽管，葡萄对人类来说是一种很重要的水果，但是有关果实和风味发育过程中生物化学和物理变化的遗传线索目前还知之甚少。研究人员表示，大量的调节基因的确定为破解果实成熟控制机制提供了强大的新资料。（生物通杨遥）

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





《自然》癌症研究突破：独特的新因子

生物通报道：来自美国圣犹大儿童研究医院（St. Jude Children's Research Hospital）免疫学系，哈佛医学院及 eBioscience 公司的研究人员发现了一种能阻止免疫应答过度反应，伤害身体的新的信号分子。这一发现将有利于一种新的癌症治疗方法：癌症“疫苗”的发展，这对于自免疫疾病，譬如 I 型糖尿病，炎症疾病，比如炎症性肠病（inflammatory bowel disease, IBD）和哮喘来说都是一个好消息。这一研究成果公布在《Nature》杂志上。

去年 FDA 批准了世界首支癌症疫苗——针对女性的宫颈癌疫苗，随着这一种癌症疫苗（默沙东的宫颈癌疫苗佳达修

（GARDASIL））在美国的上市，在澳大利亚、欧盟、新加坡等共计 85 个国家和地区也都获准上市。这种针对宫颈癌的疫苗能获得成功主要是因为宫颈癌病因明确——HPV 感染，然而目前对于许多重要癌症的了解还没有达到这一步。

在这篇文章中，圣犹大儿童医院领导的研究团队发现了称为调节性 T 细胞的这种免疫淋巴细胞能释放一种蛋白复合物，这种复合物包含两种蛋白：Ebi3 和 Il12a。就像一个刹车一样，这种蛋白复合物可以阻止体内效应 T 淋巴细胞（effector T lymphocytes）的过激反应。

由于这种复合物属于一类信号分子家族：细胞因子（cytokine），而免疫系统细胞因子又称为白介素（interleukins），因此研究小组的成员将这种蛋白命名为 interleukin-35（IL-35）。研究人员发现大部分刺激免疫系统的细胞因子都是通过引起炎症反应，促进免疫攻击，然而这种因子却属于少数几种抑制免疫系统活性的信号分子。

圣犹大儿童医院的 Dario Vignali 表示，

“IL-35 的发现十分重要，因为对调节性 T 细胞（regulatory T cells）的调控是免疫治疗的一个关键目标”，免疫治疗是指针对传染性疾病、癌症以及其它疾病，通过操纵增强或减弱免疫系统作用来达到治疗效果的疾病治疗方法。尽管通过调节性 T 细胞介导免疫治疗为患者带来了希望，但是这种能抑制免疫系统活性的细胞分子至今了解的很少，这是这一领域滞后的一个重要问题。

研究人员发现编码 IL-35（Ebi3 和 Il12a）的基因在条件性 T 细胞中具有活性（并且对于条件性 T 细胞行使功能至关重要），在效应性 T 细胞中却没有。事实上，缺失了 Ebi3 和 Il12a 的调节性 T 细胞失去了抑制效应性 T 细胞的大部分作用，而且这些调节性 T 细胞不能治愈带有一种炎症疾病（与人类 IBD 相似）的模式小鼠。

进一步研究发现，当研究人员将调节性 T 细胞加入到效应性 T 细胞培养皿中，调节性 T 细胞立即大量增加 Ebi3 和 Il12a 基因的 mRNA 数量，这说明效应性 T 细胞释放出了刺激调节性 T 细胞编译 IL-35 的信号。

Vignali 认为，“我们发现 IL-35 作为一种调节性 T 细胞释放的关键细胞因子，对于我们加深理解这些细胞如何阻止免疫应答过激

反应具有重要的意义”，“调节性 T 细胞被认为是一种阻碍效应抗癌疫苗发展的主要因素，而且也可能抑制了某些慢性传染病，比如 hepatitis C 和肺结核的消除性免疫（sterilizing immunity，指宿主能清除体内寄生虫，并对再感染产生完全的抵抗力，例如热带利什曼原虫引起的皮肤利什曼病）。如果影响调节性 T 细胞功能的最大因素是 IL-35，那么抑制了这种蛋白复合物的活性也许就能增加抗癌疫苗的作用”，疫苗是通过刺激免疫系统识别和攻击特异性靶标，比如生殖细胞或癌症细胞来起作用的。

“自免疫疾病和炎症疾病都是由控制我们免疫系统的正常调控过程中出现故障而导致的”，Vignali 又说，“加入 IL-35 或者提升 IL-35 的活性的新治疗方法也许能为这些疾病提供新的治疗机会。”

Vignali 实验室的博士后，文章的第一作者 Lauren Collison 也认为，“识别出 IL-35 是一项令人激动的研究成果，因为这是至今发现的唯一一种由调节性 T 细胞产生，抑制效应性 T 细胞活性的细胞因子”，“也就是说也许有一天，控制住病患 IL-35 的水平就能控制免疫应答的升降了。”（生物通：张迪）

原文检索：Nature 450, 566-569 (22 November 2007) | doi:10.1038/nature06306; Received 31 July 2007; Accepted 26 September 2007 The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function
[[Abstract](#)]

癌症疫苗来了？

11 月 1 日，澳门赌王之女、影视明星何超仪当众为一只玩具熊母女“打针”，以推广宫颈癌疫苗。这一天，葛兰素史克（GSK）的宫颈癌疫苗开始在澳门销售。

而此前，另一家制药巨头默沙东（Merck）的宫颈癌疫苗已经在台湾、香港和澳门上市。

实际上，自 2006 年 6 月，默沙东的宫颈癌疫苗佳达修（GARDASIL）获得美国食品药品监督管理局（FDA）批准，成为全球第一种癌症疫苗以来，佳达修已经在美国、澳大利亚、欧盟、新加坡等共计 85 个国家和地区获准上市。

葛兰素史克也不甘示弱。今年 5 月，该公司研制的宫颈癌疫苗在澳大利亚获得上市批准。此后，其疫苗又先后获准在欧盟、菲律宾、阿联酋等地上市。

作为女性健康的重要威胁之一，每两分钟，世界上就有一位妇女死于宫颈癌。在中国，宫颈癌同样是妇女面临的主要卫生问题之一。大家所熟知的著名艺人梅艳芳和李媛媛，都不幸死于这一疾病，令人扼腕叹息。

因此，很多女性都在翘首以盼这种预防性疫苗何时能在中国市场上出现。中国医学科学院肿瘤研究所的乔友林教授就坦言，不断有人向他打听，什么时候可以接种宫颈癌疫苗。

抵抗 HPV

引发宫颈癌的元凶是 HPV（乳头状瘤病毒）。全球范围内，约 71% 的宫颈癌病例由 HPV16 型和 18 型引起。

11 月 7 日在北京举行的第 24 届国际 HPV（乳头状瘤病毒）大会上，乔友林领导的研究组首次披露了一项覆盖中国各地区共 19 家医院 1244 名宫颈癌患者的流行病学调查结果。

调查表明，中国女性中约 85% 的宫颈癌是由这两种 HPV 病毒亚型引起的。也就是说，这两种病毒亚型（HPV16、18 型）在中国女性中引发宫颈癌的比例高于全球平均水平。此

外，在各地区没有发现 HPV 型别分布的差异。

在德国伍兹堡大学教授施瓦茨（Tino Schwarz）看来，对于中国女性而言，这无疑是一个好消息。因为葛兰素史克和默沙东推出的宫颈癌疫苗，针对的主要都是 16 型和 18 型病毒，对这两种亚型的 HPV 病毒具有 100% 的抵抗作用。

到目前为止，在最早参加临床试验的那批志愿者中，宫颈癌疫苗的保护作用已经超过五年。虽然疫苗的保护作用到底能够维持多久还需要继续跟踪，但有业内人士称，一般疫苗保护期可能达到十年以上。

不过，宫颈癌疫苗在中国内地上市或许尚需时日。

数年前，默沙东和葛兰素史克就各自在全球范围内开展了大规模的多中心临床试验。据《财经》了解，这两家公司当初均希望将中国纳入其全球临床试验体系，但未能如愿。去年年初，两家公司均向中国的国家食品药品监督管理局(SFDA)提交了宫颈癌疫苗的注册申请。

据葛兰素史克北亚地区疫苗部医学总监唐海文博士在此次国际 HPV 大会上透露，SFDA 已经同意宫颈癌疫苗在中国开展临床试验，但仍然很难预测疫苗在中国上市的大概时间。

而默沙东亚太区疫苗事务医学总监杨冠洋博士也表示，“各个国家的法规和程序不一样，我们很难预测（宫颈癌疫苗）什么时候可以在中国上市。”

一位研究人员甚至有些悲观的估计，由于此前中国没有参与宫颈癌疫苗的 global 临床试验，“如果没有快速通道，中国内地的女性将

至少推迟五年才能享受到宫颈癌疫苗这种最新的研究成果。”

鉴于疫苗尚未在中国内地上市，默沙东和葛兰素史克均不愿谈论疫苗的具体价格。在一些发达国家和地区，宫颈癌疫苗的价格目前可高达数百美元。和乙肝疫苗相似，宫颈癌疫苗需要在六个月接受三次肌肉注射。

实际上，从国际上看，疫苗价格与市场规模以及政府是否提供补贴等因素有很大关系。葛兰素史克全球医学事务副总裁博格茨

（Hugues Bogaerts）博士表示，疫苗是一种特殊产品，在不同国家和地区，针对不同的人群，价格也可能不一样，“我们的疫苗在发展中国家的价格会比在发达国家低得多。”

宫颈癌疫苗的问世，自然凝聚了很多研究人员的心血。在此次国际 HPV 大会上，多位研究人员向《财经》记者提到了一个中国名字——周健。

1991 年，澳大利亚昆士兰大学的伊恩·弗雷泽（Ian Frazer）和来自中国的周健合作，利用重组 DNA 技术制造出一种外形与 HPV 极为相似的“HPV 病毒样颗粒”。这种病毒样颗粒内部不含导致疾病的 DNA，却能刺激身体产生针对这种病毒的免疫反应。据《科学时报》报道，昆士兰大学后来将此专利转让给了默沙东，这一突破性进展为宫颈癌疫苗研发奠定了重要基础。

不幸的是，1999 年，当疫苗的第三期临床研究还在进行时，周健却在回中国进行学术访问期间，因过度疲劳意外去世。

内地女性可期

如今，成千上万的女性已经开始享用弗雷泽和周健等研究人员奉献的成果，宫颈癌也有

望成为人类通过多种方法来全面预防和根除的第一个恶性肿瘤。

当然,作为一种主要旨在预防的疫苗,宫颈癌疫苗并不意味着适用于所有女性。从预防效果及卫生经济学的角度看,最适宜接种宫颈癌疫苗的是那些尚未发生性行为的年轻女孩。换句话说,宫颈癌疫苗最适合处女使用。

不过,成熟女性同样可以接种。澳门影视明星何超仪在那次推广活动后就注射了葛兰素史克的宫颈癌疫苗——该疫苗的适用人群为10岁至45岁的女性。默沙东疫苗目前的适用人群则为9岁至26岁的女性。但其研究人员公布的最新数据显示,其疫苗对24至45岁的女性同样有效。据悉,该公司将在今年年底之前将数据提交至美国FDA,以期获准将疫苗适应范围扩展至45岁以下女性。

由于HPV主要通过性行为或生殖器接触传播,宫颈癌和宫颈癌疫苗有时会被贴上道德标签。人们对待宫颈癌疫苗的态度,也往往与各自的文化背景密切相关。

在国际HPV大会的一次媒体会上,就有记者提出这样的问题,“如果是从一而终的良家妇女,有没有必要注射宫颈癌疫苗?”。而中国医学科学院肿瘤研究所的乔友林教授的

回答是:“平均每位妇女在其一生中有80%的几率感染HPV。我不主张区分高风险和低风险人群。”虽然HPV感染通常可以自愈,但在一些情况下仍会导致宫颈癌。

剑桥大学病理学系教授斯坦利(Margaret Stanley)也认为,HPV是一种常见的病毒,“不要与所谓的不良行为联系在一起。”

虽然存在一些伦理上的争议,但这并未成为主流。目前,一些国家已经将宫颈癌疫苗纳入官方疾病预防控制机构的接种推荐名单。例如,美国为不被保险覆盖的9岁至18岁女性提供免费接种,澳大利亚、意大利和英国等国也都决定将十二三岁的女孩纳入全民接种计划。

当然,即使接种了疫苗的女性,也需要接受宫颈癌筛查。对大多数中国内地女性而言,宫颈癌筛查和早诊早治仍是一种切实可行的预防方式。毕竟,宫颈癌何时在中国内地上市尚未可知,即使疫苗今后得到中国的SFDA批准,其价格在短期内估计也不会便宜。

专家建议,如果有女性不愿等待,同时经济状况也许可的话,或许可以考虑从港澳台或者国外购买宫颈癌疫苗。毕竟,现在人类已经进入了一个地理边界越来越模糊的时代。



联川生物 全球首推

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

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。**

秋季特惠服务活动火热进行中!

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

网址: www.lc-bio.com (China)

www.lcsciences.com (U.S.A)



长江学者最新《Neuron》文章

生物通报道：来自华中科技大学，生物物理研究所联合实验室，教育部分子生物物理重点实验室（Key Laboratory of Molecular Biophysics），生物大分子国家重点实验室的研究人员突破了线虫在研究神经突触形成，神经递质释放方面的技术限制，证明了 UNC-31 在 DCVs 定位在质膜上的重要性，并提出 PKA 活性可以逆转 UNC-31 突变引发的 DCVs 定位缺陷，这对于了解神经突触形成和神经递质释放具有重要的意义，能进一步解析囊泡形成和释放的机理。这一研究成果公布在《Neuron》杂志上。

文章的通讯作者分别是华中科技大学的徐涛教授和吴政星副教授，前者现任华中科技大学生命科学院副院长，生物物理与生物化学研究所所长，教育部长江学者奖励计划特聘教授，主要在细胞和分子水平上对神经和内分泌系统信号转导和分泌机制进行研究。

秀丽隐杆线虫（*Caenorhabditis elegans*，以下简称 *C. elegans*）是一种可以独立生存的“自由线虫”，线虫是目前发育生物学上重要的模式生物，它的构造简单，生长快速，可大量养殖，易于产生突变。此外它的细胞数目以及细胞命运图谱几乎固定，并且易于追踪。而将线虫提升到如此地位的正是英国科学家布瑞纳，他在 60 与 70 年代对于线虫所进行的研究，让我们对细胞分裂与分化的调控有更多的了解。而线虫也因而成为重要的模式生物，线虫研究的另外一个重大成功是关于细胞凋亡的研究，细胞凋亡的调控机制在各种动物中相当类似，而这些知识主要来自于线虫的研究。

除此之外，线虫也是研究神经突触形成，神经递质释放的重要模式系统。然而，由于缺乏释放过程中直接的功能性分析，极大的影响了对于线虫囊泡内吞和胞吐（vesicular exocytosis and endocytosis）机制的了解。

在这篇文章中，研究人员发展了直接电生理实验，突破了这一技术限制，他们利用膜电容（membrane capacitance）和电流分析（amperometry）进行了线虫原代培养神经细胞的实验，而且研究人员利用全内反射荧光显微技术（internal reflection fluorescence microscopy）成功监控了单致密核心囊泡（single dense core vesicle, DCV）的融合及定位。

通过这些技术方法及成熟扰动分析（perturbation analysis），研究人员证明了 UNC-31 在 DCVs 定位在质膜上的重要性，而且有趣的是，UNC-31 突变引起的 DCVs 定位缺陷可以完全由 PKA 活性逆转，同时研究人员还证明 UNC-31 在 UNC-31 介导的 DCV 胞吐积累中的作用。这些对于了解神经突触形成和神经递质释放具有重要的意义，能进一步解析囊泡形成和释放的机理。（生物通：张迪）

原文检索：Neuron, Vol 56, 657-669, 21 November 2007 PKA Activation Bypasses the Requirement for UNC-31 in the Docking of Dense Core Vesicles from *C. elegans* Neurons [Abstract]

秀丽线虫：诺贝尔奖的新宠

线虫之所以能在经典模式生物的名单中占有一个重要位置和它的形态特点有密切关系。前面已经提到,线虫通身透明,观察十分容易。更为重要的一点是,它是唯一一个身体中的所有细胞能被逐个盘点并各归其类的生物。它的幼虫含有 556 个体细胞和 2 个原始生殖细胞,成虫则根据性别不同具有不同的细胞数。最常见的雌雄同体成虫成熟后含有 959 个体细胞和 2000 个生殖细胞,而较少见的雄性成虫则只有 1031 个体细胞和 1000 个生殖细胞。此外,线虫的生命周期很短,它从生到死的全过程只有 3 天半,这就使得不间断的观察并追踪每个细胞的演变成为可能。通过 20 年的努力,到 90 年代中期,人们已经建立了完整的线虫从受精卵到所有成体细胞的谱系图。这意味着,它机体里每一个细胞的来龙去脉都处于我们的视野中,清晰并且无所遗漏。

由于精子和卵细胞的形成(通常称为配子发育 gametogenesis)是贯穿个体发育的主线,因此人们通常按照生殖系细胞的发育路线建立个体细胞的谱系。这里涉及一个有关生殖系(germline)的定义,它是指从受精卵到原始生殖细胞的分裂过程中,所有能形成配子(生殖细胞的另外一种说法)的细胞。众所周知,任何生物个体的细胞中都含有同样一套基因,但并不是所有细胞都能发育成配子。只有一类特殊的细胞能够形成生殖细胞,至于到底哪些细胞能够成为担负种系延续重任的幸运者,则是一件在受精之初就已经决定的事情:卵子中的一类特殊物质决定了细胞的命运。在线虫、果蝇和两栖动物,这类物质称为生殖质(germplasm)。它们是位于卵子中离细胞核较远的一端的一些颗粒状物质,由蛋白质和核糖核酸(RNA)构成。

线虫的生殖质通常被称为 P 颗粒,对它

的分配是通过一种不对称分裂实现的,这种分裂方式把它只分配到生殖细胞中,而不分配到注定要成为体细胞的姊妹细胞中。受精卵的第一次分裂产生一个含 P 颗粒的种系细胞 P1 和一个创建者细胞 AB (foundercell,等同于哺乳动物中的干细胞,可以通过分裂形成其他构成机体组织的细胞,因为线虫成虫中没有类似干细胞的具有自我更新能力的细胞,所以用创建者细胞来命名)。P1 继续分裂, P 颗粒分配到种系细胞 P2 中, 另一个细胞成为创建者细胞 EMS。接下来进行的第三次分裂中,产生 P3 种系细胞和创建者细胞 C。前者继续分裂形成生殖系的最后一个种系细胞 P4, 它最终形成两个原生殖细胞 Z2 和 Z3,同时形成的还有创建者细胞 D。到产生原生殖细胞时,幼虫发育就绪——556 个体细胞已经完全从创建者细胞形成,可以从母体产出了。通过把分子中带有不扩散高分子葡萄糖的荧光染料注入创立者细胞,幼虫中每个部位细胞的家族史立时昭然若揭。

来自创立者 AB 的细胞后来分裂和分化出了 389 个细胞,它们构成了皮下、神经、咽肌、分泌腺和运动系统的一部分细胞。EMS 则细胞再分裂为 MS 和 E 两个创建者细胞系,由 MS 细胞分裂成为包括体肌细胞、咽肌细胞、神经细胞和分泌腺细胞在内的 80 个细胞, E 细胞的主要作用是发育成消化道的主体: 20 个肠细胞。构成神经系统的另外 2 个细胞则来自 C 细胞,此外,还有 45 个皮下和体肌细胞也是来自于 C 创建者系。最后, D 细胞全部用于形成运动系统的 20 个体肌细胞。

出生之后,线虫的发育还将继续,从形态上,还需要经过 3 次蜕皮,从细胞数量上,一些器官的细胞还要继续分裂,比如,肠细胞还需要多来 14 个才够,而表皮细胞也还需要继

续分裂直到数量达到 213 个。在这个数量继续增长的时期，细胞最多时达到 1090（雌雄同体，若是雄虫则为 1179）。然而，我们前面已经提到，完全成熟的成虫只有 959 个细胞，那么，多出的 131 个细胞又到哪里去了？面对这个问题，大家最先想到的答案一定是“它们死掉了”。这答案不错，不过它们在这里死亡的方式很有点独特。

通常情况下，当我们说一个细胞“死亡”时，指的是病理性死亡，也就是坏死（necrosis）。这个字眼来自希腊文 nekrosis，本意即是“死亡”。之所以坏死是“病理性死亡”，乃因为它是由严重损伤导致的细胞结构和功能的崩溃。正常情况下，细胞借细胞膜和外界隔离，膜上各种调节大小分子进出的蛋白质就像一台台精巧的分子发动机：它们消耗能量把一些离子泵进细胞，又将细胞内不需要的物质排出门外，调节细胞内水分的含有量，使细胞既不干渴也不至于胀成水壶。对于维系细胞内环境稳定来讲，这些发动机的稳定运转至关重要。

附：徐 涛 博士，教授，

博士生导师，湖北宜昌人，1970 年出生。

现任华中科技大学生命科学院副院长，生物物理与生物化学研究所所长，教育部长江学者奖励计划特聘教授。2003 年起兼任中国科学院生物物理所副所长。

1995 年底，受德国马克思-普朗克生物物理化学研究所教授、1991 年诺贝尔生理与医学奖得主 E. Neher 博士的邀请，到其实验室联合培养一年。在 Neher 教授的指导下，完成了博士论文的工作。随后获得德国马克思-普朗克协会奖学金，在 E. Neher 教授的指导下进行博士后研究，研究方向为细胞生物物理。

1999-2000 年赴美国华盛顿大学生理与生物物理系继续深造，指导教授为美国科学院院士 B. Hille 教授。国外留学期间，在 Cell、Nature Neuroscience、Nature Cell Biology、EMBO J、Biophysical J 等国际著名学术刊物上发表多篇论文，其中发表于 Nature Neuroscience 的论文同时配发了特约评论文章。回国后主要在细胞和分子水平上对神经和内分泌系统信号转导和分泌机制进行研究，承担了多项国家自然科学基金面上项目、重点项目和国家杰出青年科学基金项目、973 项目等国家级研究课题。近年来在 Nature cell Biology、J. Physiology、PNAS 等国际权威科学期刊上发表了多篇有影响的研究论文。

吴政星，男，1964 年出生，博士，华中科技大学分子生物物理教育部重点实验室副教授。

1984.7 毕业于华中师范大学生物系，获理学学士学位；

1984.7—1987.8，湖南大学邵阳分校生物科任生理学助教；

1987.9—1990.7，四川大学生物学系动物学专业硕士研究生，1990.6 毕业并获硕士学位，学习和从事放射免疫测量工作；

1990.7—1999.8，华中师范大学生物系任讲师，主要从事本科生和硕士研究生课程教学；

1999.9—2005.6，华中科技大学生命科学与技术学院博士研究生，2005.6 毕业并获理学博士学位；

2002.12—2004.12，以访问学者身份在德国萨尔大学生理系（Universitaet des Saarlandes, Physiologisches Institut）进行合作研究。

主持国家自然科学基金 2 项，湖北省自然科学基金 1 项，主持和参与 973 项目的子课题 3 项，参
下转 P18 页



南方医科大学等《科学》文章 解析细胞生长调控

生物通报道：来自匹兹堡大学医学院药理学系，神经学系，南方医科大学基础医学院细胞生物学系的研究人员发现了重要的细胞生长关键调控因子：mTOR 作用途径中的新成员，而这一新成员的抑制作用会受到另一因子的抑制，这对于研究细胞生长调控及增殖，探索靶向 mTOR 的治疗肿瘤的药物意义重大。这一研究成果公布在《Science》杂志上。

文章的通讯作者是来自匹兹堡大学医学院的蒋玉（Yu Jiang，音译）博士，第一作者为同属于匹兹堡大学和南方医科大学的白小川（Xiaochun Bai，音译）博士。

哺乳类动物雷帕霉素靶蛋白(The mammalian target of rapamycin, mTOR)是一种重要的细胞生长调控因子,在蛋白激酶调节细胞存活、增殖和血管生成的信号转导途径中起到重要作用。之前 mTOR 一直被作为免疫抑制药物雷帕霉素的靶标进行研究。

随着研究的深入，科学家们发现mTOR是由Rheb——一种Ras-like小鸟嘌呤核苷三磷酸酶（small guanosine triphosphatase, GTPase），能对生长因子刺激和营养获得作出应答。在这篇文章中，研究人员发现Rheb调节mTOR的机理：即通过一种FK506 绑定蛋白

（FK506-binding protein, FKBP）家族的成员——FKBP38 进行调控。

研究人员通过实验发现 FKBP38 绑定在 mTOR 上，以一种类似于 FKBP12-rapamycin 复合物作用机理的方式抑制 mTOR 的活性。而且 Rheb 也可以直接与 FKBP38 相互作用，

阻止它与 mTOR 以一种依赖于 GTP 的方式相互作用。

这些研究结果表明 FKBP38 是 mTOR 的一个内源性的抑制子,而这种抑制活性会由于生长因子的刺激和获得营养被 Rheb 拮抗。(生物通：张迪)

原文检索：Science 9 November 2007;Vol. 318. no. 5852, pp. 977 - 980 DOI: 10.1126/science.1147379
Rheb Activates mTOR by Antagonizing Its Endogenous Inhibitor, FKBP38 [[Abstract](#)]

mTOR（mammalian target of rapamycin）是丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶，在感受营养信号、调节细胞生长与增殖中起着关键性的作用。mTOR 可磷酸化 p70^{S6K} 和 4E-BP1，促进蛋白质合成。mTOR 的活性受氨基酸尤其是亮氨酸浓度的调节,生长因子及能量水平也能通过 AMPK 调节 mTOR 活性。P13K / Akt 和 Akt / TSC1-TSC2 两条信号通路都可调控 mTOR 活性，进而调节细胞的生长与增殖。mTOR 信号通路的异常会导致肿瘤的发生，可以针对 mTOR 研制出治疗肿瘤的靶向药物。

上接 P17 页

与国家自然科学基金多项。近五年来发表论文 20 余篇，其中部分论文发表在国际高水平杂志，如 Neuron, Current Biology, Journal of Neuroscience, Traffic 和 Journal of Cellular Physiology 等。

研究领域：细胞生物物理和神经生物物理。



北大等《PNAS》文章 发表神经学研究进展

生物通报道：来自约翰霍普金斯医学院，霍德华休斯医学院遗传医学研究院，神经科学系，南伊利诺斯大学医学院，纽卡斯尔大学（The University of New Castle），北京大学第一附属医院等地的研究人员通过遗传学和功能学研究证明了带有可变动力学特征的突变 iGluR3 与人类中度认知损伤（moderate cognitive impairment）有关。这为了解代谢型谷氨酸受体 AMPA 受体的作用机理，以及深入研究学习和记忆的细胞模式提供了重要资料。这一研究成果公布在《美国国家科学院院刊》（PNAS）上。

文章的通讯作者是来自约翰霍普金斯医学院的王涛（Tao Wang，音译）副教授，第一作者是同属约翰霍普金斯和北京大学附属第一医院的吴叶（Ye Wu，音译）博士。

在大脑中难以计数的突触中，目前认为兴奋性突触执行着学习和认知的主要功能。谷氨酸是大脑中含量最多，功能最强的兴奋性突触递质。谷氨酸在突触后膜上的受体被受体特异性的激动剂分为几类，NMDA 受体，AMPA 受体和代谢型谷氨酸受体是最主要的三类。其中 α -氨基-3-羟基-4 异恶唑-丙酸

（ α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid, AMPA）受体与突触可塑性密切相关，了解 AMPA 受体的整个生命过程有助于进一步认识突触可塑性，进而认识学习记忆的分子机制。

AMPA 受体在粗面内质网合成，经高尔基体修饰后，更多地分布在树突柄等非突触部位，LTP 和 CaMK II 可以启动 AMPA 受体的突触插入，之后通过其胞质内 C 端，由 ABP，GRIP 和 NSF 等蛋白介导，锚定于突触后致密斑。PICK1 和 PKC 可以介导突触膜上 AMPA 受体的胞吞过程，离开突触后，AMPA 受体或被重新循环利用，或被溶酶体最终降解。

离子型 AMPA 受体 iGluRs 在两个学习和记忆的细胞模式：长时程增强（long-term potentiation）和长时程抑制（long-term depression）的诱导和维持过程中起着重要的作用。在这篇文章中，研究人员利用一种称为 X 射线比较基因组杂交（X-array comparative genomic hybridization, CGH）的技术，在编码 iGluR3 的基因 GRIA3 上发现了一段基因组删除（0.4 Mb），而且通过对带有 X-性染色体连锁智力发育迟缓（X-linked mental retardation, XLMR）的 400 个男性的测序发现了四个错义突变（missense variants）：G833R, M706T, R631S 和 R450Q。

进一步的研究发现 HEK293 细胞中由于蛋白错误折叠，G833R 会导致 iGluR3 减少 78%，同时研究人员也发现 iGluR3-M706T (S2 domain) 和 iGluR3-R631S (near channel core) 都不具有重要的通道功能，而 R450Q (S1 domain) 则与受体加速脱敏化（desensitization）有关。并且在 HEK293 细胞中在与 iGluR2 形成 heteromeric receptors 的时候，这四种突变都会改变脱敏动力学。

这些研究结果揭示了带有可变动力学特征的突变 iGluR3 与人类中度认知损伤

(moderate cognitive impairment) 有关的遗传学和功能学特征。(生物通: 张迪)

原文检索: Published online before print

November 7, 2007 Proc. Natl. Acad. Sci. USA,
10.1073/pnas.0708699104 Mutations in ionotropic
AMPA receptor 3 alter channel properties and are
associated with moderate cognitive impairment in
humans [Abstract]

突触后膜上游荡的 AMPA 受体

在大脑中难以计数的突触中, 目前认为兴奋性突触执行着学习和认知的主要功能。谷氨酸是大脑中含量最多, 功能最强的兴奋性突触递质。谷氨酸在突触后膜上的受体被受体特异性的激动剂分为几类, NMDA 受体, AMPA 受体和代谢型谷氨酸受体是最主要的三类。人们发现 NMDA 受体和 AMPA 受体在突触后膜上的行为是不同的, NMDA 受体在后膜上相对稳定, 而 AMPA 受体在膜上的含量高度可变, 甚至有部分突触后膜不含 AMPA 受体, 同时 AMPA 受体的变化也是与突触的活性有关的。Borgdorff and Choquet 在 Nature 上报道了 AMPA 受体的神经元表面出乎意料的活性, 它们在细胞膜上随意的游荡, 当它们靠近突触形成的部位时则停下来。更有趣的是, 这

种 AMPA 受体侧向移动活性是被调控突触强度的信号所调节的。

以前就发现对突触后膜上的 AMPA 受体数目进行调控是进行突触可塑性改变的有效途径。改变的时程可以维持一段时间, 因此可能与大脑的认知功能有关。因为受体本身太小, 用显微镜都难以观测, 所以 AMPA 受体在细胞膜上的行为也就成了非常难进行已经的问题。Borgdorff and Choquet 设计了一种方法, 将抗体用乳胶颗粒交联在受体上, 这样就可以在培养神经元中用显微镜直接观察受体的活动了。

研究者用这种方法发现 AMPA 受体的活动在随意移动和限制位置移动之间变化, 当受体靠近突触时往往限制位置移动。因为抗体标记的受体太大, 不能被内吞入细胞膜, 所以这种受体也不能完全模拟真实的受体行为。但研究者发现如果用激光束使局部的钙离子浓度增加, 这是能增强突触活性的。则 AMPA 在此位置的聚集就增加了, 而且比较固定。

他们的研究发现的 AMPA 受体在到达突触之前可能的行为, 虽然还不能被认为完全是真实受体的行为, 但为 AMPA 受体活性的研究开辟了新的途径。

GE Healthcare

ECL蛋白印迹

—请选用真正唯一的Amersham ECL

• 17年来最为广泛应用和文献引用的蛋白印迹标准产品, 引用文献超过3000篇

Amersham ECL™

世界第一个在蛋白印迹
使用的化学发光试剂

Amersham ECL Plus™

可同时使用于化学发光和化
学荧光检测, 灵敏度较高

Amersham ECL Advance™

最高灵敏度化学发光检测,
大大降低昂贵抗体的使用量

Amersham ECL Plex™

利用Cy3和Cy5标记, 是唯一能进行
多重和定量检测的化学荧光试剂

Amersham ECL introduced

-1990

Amersham ECL Plus introduced

1997

Amersham ECL Advance introduced

2002

Amersham ECL Plex introduced

2005



《自然》最新封面聚焦干细胞技术热点

生物通报道：两项令人期待的科学研究上周公布的研究成果代表着人类朝着再生医学的梦想又进了一步，这两项研究成果：克隆灵长类动物胚胎干细胞，以及成人细胞的再编程（reprogramming）是获得“万能”细胞征途中的里程碑。

本期《Nature》杂志封面就将焦点放在了胚胎干细胞上，封面说明中指出，成人细胞再编程技术更加适合于病患的遗传匹配，这些胚胎干细胞也许可以排除免疫排斥的干扰进行治疗。一个再编程的方法就是体细胞核移植，即将一个成人细胞核插入到已移除自身细胞核的卵母细胞中，诱导胚胎进入期阶段（blastocyst）。之前这只能在小鼠中实现。现在 Byrne 等人成功将这一技术应用于灵长类动物，这一成功也许意味着这一方法能产生病患来源的胚胎干细胞。封面上就是一个去核之前的卵细胞，一只 pipette 从左边固定住细胞，去核 pipette 则从右边正准备靠近细胞核。



人类胚胎干细胞具有能发育成人体 200 多种细胞类型的潜力，通常研究中的胚胎干细胞都是来自于体外受精（in vitro fertilization）过程中废弃的胚胎。但是研究人员希望能获得与个体病患相匹配的万能细胞，然后将这些细胞移植入体内，用以治疗像是帕金森症，糖尿病之类的疾病，或者用于疾病研究。

克隆是获得这些细胞的一个途径，上周，由俄勒冈健康与科学大学（Oregon Health & Science University）的 Shoukhrat Mitalipov 领导的一个研究小组报道了首次从克隆猴胚胎中获得胚胎干细胞，至今克隆胚胎干细胞只再小鼠中实现过，此次从灵长类动物中获得胚胎干细胞“就像冲破了屏障”，来自 Advanced Cell Technology 的 Robert Lanza 认为。

1996 年首个克隆动物：多利羊的出现是克隆领域中的一个重要成功，但是之后再人类或者猴胚胎中的克隆失败让这一研究陷入困境。

2003 年，灵长类克隆研究人员 Gerald Schatten 说，“以目前的技术方法，在非人类灵长类动物利用核移植（NT, nuclear transfer）获得胚胎干细胞也许比较困难，生殖性克隆也难以实现”，这是继其在 716 个猴卵中实验，未获得单克隆之后发表的言论。之后，2004 年 2 月来自韩国首尔大学的黄禹锡宣布他获得了克隆的人类胚胎干细胞，但是 2006 年 1 月，这些结果被证明属于造假，因此一些人开始相信 Schatten 的说法是正确的。

Mitalipov 研究小组在猴生殖克隆方面花费了 10 年的时间进行研究，进行了 15000 个卵细胞实验。自黄禹锡的结果被证实属于造假之后，研究人员决定从生殖性克隆转向建立一个克隆胚胎干细胞系，他们从一只叫 Semos

的 9 岁大的恒河猴上取样皮肤细胞,分离出细胞核,移入准备的具有目的遗传物质的卵细胞中,2007 年 1 月,他们成功获得了一个具有胚胎全能性的细胞系,两个月以后又获得另外一个。



(利用捐赠的细胞,科学家们创造了一个克隆的灵长类动物,取名为“决战猩球(Planet of the Apes)”电影中的 god)

这项成功采用了一种新的成像技术,这台命名为 Oosight, 价值 19000 美元的成像机器能帮助研究人员清楚的观测到包含 DNA 的卵细胞结构,从而方便分离——这是核移植的第一步。之前研究人员利用的是一种称为 Hoechst 的染剂,与紫外光定位和移除卵细胞 DNA,但是 Mitalipov 研究小组发现这种方法会破坏卵细胞。

Mitalipov 表示,他们研究小组的技术也

能用于人类细胞,“这里没有什么特殊的,但是你要采用这种成像系统”。

然而,生殖性克隆仍然有很长的路要走,4 月在获得了两个细胞系之后,Mitalipov 研究小组尝试在 77 个胚胎中继续实验,但是都不能成功怀孕。

由于黄禹锡事件的影响,Nature 作出了不寻常的决定:交于澳洲莫那什大学(Monash University)单独检测这些结果,莫那什大学成员 Alan Trounson 表示,“由于近期人类体细胞核移植方面的失败案例,这一科学团队的核移植实验需要一些确证。我们现在完全相信这些实验结果。”

许多科学家们都要犹豫在人类进行这项研究,因为这需要妇女经受一个具有健康风险的不适过程,总而言之,虽然 Mitalipov 的研究团队利用 304 个卵细胞获得了两个原代胚胎干细胞系,但研究人员仍然不知道这一特例的成功与其它大部分的失败的关键区分是什么,因此也许要建立人类胚胎干细胞系也需要相似数量的卵细胞。(生物通:张迪)

原文检索: Nature 447, 618-619 (7 June 2007) |

doi:10.1038/447618a; Published online 6 June 2007

Simple switch turns cells embryonic [Abstract]



Miltenyi Biotec

德国美天旎生物技术公司



MACS 标记策略

应用 MACS 技术进行磁性细胞分选最重要的一点是高质量的标记。要尽可能地增强阳性细胞的标记,并减弱背景染色。有两种基本的磁性标记方式:直接标记和间接标记。

1、直接磁性细胞标记 (Direct magnetic cell labeling)

直接标记是最快速、最特异的磁性标记方法。目前有多种分选人、小鼠、大鼠以及非人类灵长类细胞的 MACS 直标微珠可供选用。

2、间接磁性细胞标记 (Indirect magnetic cell labeling)

间接磁性细胞标记需要联合使用单克隆或者多克隆抗体和 MACS 间标微珠。未结合抗体、生物素化抗体或者荧光素标记抗体均可作为一抗标记细胞,再使用抗免疫球蛋白微珠、抗生物素或链霉亲和素微珠、抗荧光素微珠作为二抗磁性标记细胞。

几乎针对任何种系任何细胞的任何一种单抗或多抗,均可用于间接标记。间接标记主要在如下情况时选用:当没有直标微珠时;需要用几种抗体的混合物同时分选或去除多种类型的细胞;间接标记有放大作用,因此可在磁性分选抗原表达弱的目的细胞时使用;使用自备抗体或者配体的磁珠分选中。



"万能细胞"制造者俞君英： 得诺贝尔奖?很有可能

美日研究人员 20 日分别发表论文，宣布成功把人体皮肤细胞改造成类似胚胎干细胞的“万能细胞”，学界评价这一突破为生物科学的“里程碑”。领导美国科研小组制造“万能细胞”的是一个中国人——浙江籍的女科学家俞君英。昨晚，俞君英在接受本报专访时说，这项技术为干细胞研究找到了新的开始，可能会拿诺贝尔奖。

找到研究突破口

俞君英从 2005 年起开始将人体皮肤细胞改造为干细胞的研究，她说，做这项研究主要出于三个方面的考虑。“首先，干细胞研究一直存在争议。因为用之前的技术手段提取干细胞就要破坏胚胎，而人体胚胎克隆技术也引发伦理争议。而如果能让人体皮肤细胞退回到原始的干细胞，就能避免这种争论。其次，从病人身体上提取的细胞如果能改造为干细胞，其功能类似通过胚胎克隆技术取得的胚胎干细胞，能够最终培育成人体组织或器官，这就可以成为为病人进行器官移植手术的供体。第三，这种干细胞可以成为药物检测的最佳试验品。每个病人的遗传背景不一样，从病人自身提取的细胞经过改造，成为干细胞后，就能准确测出药物对病人的影响。”

有了最初的设想，还要有适当的技术手段。俞君英说，用改造皮肤细胞的方法制造干细胞是她在做之前的项目时想到的，“我想，干细胞研究方面如果要有突破，那就要从改造其他细胞的角度入手。”

小事故拖累“时间竞赛”

俞君英没有想到的是，在她开始制造“万能细胞”的同时，有一群日本科学家也开始着手相同的研究。

20 日，当俞君英所在的美国威斯康星大

学詹姆斯·汤姆森实验室将研究发表在《科学》杂志的同时，日本京都大学教授山中伸弥领导的研究小组也把一份类似的报告发表在《细胞》杂志。

两个小组的研究方法和原理大同小异。山中伸弥研究小组从一名 36 岁女性的脸部提取了科学家称为纤维原细胞的皮肤细胞。詹姆斯·汤姆森实验室的皮肤细胞来自一名新生儿的阴茎包皮。

俞君英说，她是 2006 年的时候知道有日本同行也在做这一研究。但就在两个研究小组暗暗展开“时间赛跑”时，俞君英的小组出了纰漏。“我们实验室里有一台干细胞培养机，”俞君英说，“有一天，我们突然发现这台机器出了问题。”这个事故使得之前所培育的干细胞无法继续使用，而这也直接导致研究成果的发表时间被推迟。

在记者问到如果没有发生事故，她的小组是否有可能领先一步发表研究报告时，俞君英说：“确实有可能会比日本方面提早几个月发表报告，不过，研究的事情，谁说得准呢？说不定日本的研究小组也遇到了相似的事故呢。”

很快就能用于药物检测

在提及培养“万能细胞”技术推广前景时，詹姆斯·汤姆森实验室的主管詹姆斯·汤姆森

说：“人们不知道这有多容易。美国数以千计的实验室基本明天就能做到。”难道这项被誉为“相当于赖特兄弟制造的首架飞机”的突破性研究成果真的那么容易做到？俞君英解释说，汤姆森所说的“容易”是指将这种“万能细胞”用于药物检测。由于药物检测对所检测细胞和相应的技术手段要求都不太高，“只要有分子研究设备的实验室都可以开展，这也意味着这项技术很快就能进入普通诊室，被应用于实际生活。”而如果想通过“万能细胞”培育人体组织或是器官，那就不是那么容易的事了。俞君英说，现在已经有公司准备用“万能细胞”来培育人体心脏，因为心脏病是一种很常见的疾病，人们对能治愈心脏病的任何方法都很感兴趣。“但如果是我来做这个培育工作的话，我想应该先从培育血液开始。人体器官是由多种细胞构成的，比较复杂，而血液的细胞成分比较简单，输血也是一种很常见很成熟的技术，先培育血液属于一种循序渐进的方式。”

取代克隆尚需时日

由体细胞改造为干细胞的技术成果被发表后，有科学家认为，胚胎细胞克隆技术可能就此走下历史舞台。就连世界首只克隆羊多利的“助产士”、英国科学家伊恩·威尔默特曾在数天前宣布，决定放弃“创造”多利羊的胚胎细胞克隆技术，转向体细胞“直接改造”技术。不过，俞君英表示，这项技术目前尚不能完全取代胚胎细胞克隆技术，因为它现阶段的实验方式存在潜在副作用。

由于现在的改造方法是利用逆转录酶病毒转化皮肤细胞，这种病毒可能使基因产生变异，引发肿瘤等副作用。因此，在克服这一潜在风险前，“万能细胞”还不能用于器官移植等临床应用。

俞君英说，她接下来会尝试利用其他的转化方法，希望能制造出不带病毒的“万能细胞”，这样的话，她所制造的“万能细胞”就会和人类生命最初阶段的胚胎干细胞完全一样。

经得起鉴定的研究成果

自从韩国学者黄禹锡在干细胞研究中的“研究成果”被确认属于造假之后，人们对科学研究成果都多了一份谨慎的态度。面对记者“成果是否经过鉴定”的提问，俞君英显得很自信。

“我们可以接受鉴定，”俞君英说，“有实验室问我们要制造出的‘万能细胞’做DNA鉴定，因为我们用来改造的皮肤细胞是从专门的公司买来的，有相关的数据和DNA信息，其他实验室一拿去就可以判断真伪。不过，到目前为止，研究成果的鉴定还没有做。”

俞君英补充说，由于美日两个小组同时发表类似的研究报告，这证明这一技术并非“天方夜谭”，因此，业界对此都表示信任，没有出现怀疑的声音。

俞君英表示，她的研究成果会成为干细胞研究领域的一个新的开始，接下来很多实验室都能以此为基础进行更有突破性的研究。

听到记者问“这项成果有希望拿诺贝尔奖吗”，俞君英笑了起来，“如果技术被证明是成功的话，有可能会拿诺贝尔奖，呵呵，不过谁知道呢？”

为中国人骄傲

和俞君英一同在詹姆斯·汤姆森实验室工作的中国科学家潘光津（音译）今天上午通过电子邮件告诉本报，作为一名干细胞研究人员，他认为用体细胞改造成“万能细胞”的研究成果是一个非常伟大的成就，“作为一名中国

人,我对我的同事能有这样的成就感到十分骄傲,尤其是她也是一个中国人”。

潘光津说,之前人们只能通过两种方法得到胚胎干细胞——要么是破坏胚胎,要么是通过克隆。而现在,科学家知道,普通的细胞也能被改造成干细胞,这是十分振奋人心的事。“人们通常认为这种逆转是不可能的,但现在这一技术被证明是可行的!这位所有的生物学家打开了一扇新的门。” 不过,潘光津也表示,将这一技术运用于临床可能还需要数年甚至数十年的时间,“现在只是迈出了第一步,不过,科学通常比我们想象的发展地更快。让我们拭目以待吧。”

不用克隆了布什很高兴

20 日,美国白宫就此项研究发表声明,称“这是一项在符合伦理道德的研究中取得的重大进展。这次人体皮肤细胞‘直接改造’技术跨越伦理障碍,令在实验室中培育出人造人体器官的梦想更近了一步。布什总统也为此感到高兴。”

世界首只克隆羊多利的培育者、英国科学家伊恩·威尔默特也在声明中称:“我们现在可以设想一个新时代即将到来——以一种简单方式制造干细胞,用人身上的任何组织标本都能培育出任何组织器官。”几天前,威尔默特刚刚宣布放弃人类胚胎干细胞克隆技术研究,转而利用“万能细胞”。

致力于人体胚胎克隆技术研究的美国科学家罗伯特·兰扎说:“这项研究是个了不起的

科学里程碑。从生物学意义上讲,相当于莱特兄弟制造的首架飞机。”

一向反对干细胞研究的美国共和党总统候选人、田纳西州前州议员弗雷德·汤普森也说:“它意味着成体干细胞和脐带血干细胞研究的 73 次突破都可以到此为止了,而在胚胎干细胞研究方面还没有任何突破。”

美国忧国妇女同盟主席温蒂·赖特说:“科学技术与伦理再次合拍了,符合伦理的方法总是最健康的,这是科学的选择。这次技术突破让科学家可以继续深入研究,促进医学发展,同时也尊重了神圣的生命。”

胚胎干细胞研究的支持者们也承认“直接改造”技术的优点,但是有人还是坚持,这两种技术应该同时进行研究。爱荷华州民主党议员汤姆·哈金一直在推动政府拨款支持胚胎干细胞研究的法案,他表示将继续这方面的努力。(杨美萍)

俞君英简介

籍贯: 中国浙江学历: 博士

毕业院校: 北京大学

出国时间: 1997 年

留学院校: 美国宾夕法尼亚大学

毕业时间: 2003 年

现工作单位: 威斯康星大学麦迪逊分校汤姆森实验室

职位: 助理科学家



中外科学家热议人体皮肤细胞 研制类胚胎干细胞的成功

本报北京 11 月 21 日电 (记者 游雪晴)

11 月 20 日，也许注定是属于干细胞的一天！

这一天，日本和美国研究人员分别在《细胞》和《科学》杂志上在线发表论文，宣布他们各自独立进行的研究，首次利用人体皮肤细胞研制出了类胚胎干细胞。这一突破被学界评价为生物科学的“里程碑”，有人认为他们将非常有可能问鼎诺贝尔奖。

同一天，在北京香山饭店，中国这一领域的几乎所有研究团队的领军人物聚集一堂，参加以“干细胞生物学与克隆”为主题的第 313 次香山科学会议。而此次会议的主题评述报告内容，正是这个炙手可热的诱导性多功能干细胞 (iPS)。

“这一技术，通俗地讲，就是将分化得十分成熟的正常体细胞，在导入四种基因载体后，就具有了一个胚胎干细胞所有特性，又重新‘退回’为一个多功能的干细胞。”美国哈佛医学院的贺熹先生向记者这样解释 iPS 是什么。

从理论上说，这种干细胞的功能类似通过胚胎克隆技术取得的胚胎干细胞，能够最终培育成人体组织或器官。由于这种干细胞能通过基因组合控制，因此有“万能细胞”、“变色龙细胞”之称。

“学界对这一研究给予高度评价，不仅因为它能避免人体胚胎克隆技术引发的伦理争议，更由于它突破了以往只能利用卵子和胚胎的取材限制，其高效、便利为再生医学应用打开了大门，为未来干细胞用于个体治疗带来了

希望。”中科院广州生物医药与健康研究院的裴端卿研究员这样解释这一技术的重大意义。

的确，从人类医学发展来看，目前已经从药物治疗、手术治疗向再生医学迈进，也就是说，通过体外培育出的不同组织器官来治疗疾病。由于胚胎干细胞可以发展成任何种类的身体组织，因此一直受到科学家的高度重视。

“以往干细胞都需要通过克隆技术从人类卵子或胚胎中获得，现在可以通过这一技术制造出用于病人和疾病的特定干细胞。这些细胞有助于了解疾病机理、找出有效而安全的药物、用细胞疗法治疗病人。”裴端卿告诉记者。

“虽然利用人类表皮体细胞制造出 iPS 的成果刚刚发表，但今年 6 月份《自然》上已经发表了相关文章，证实这一技术在小鼠实验中获得成功。”美国史道华医学研究院解亭先生对记者说：“这一技术从提出到今天，已经有将近两年的时间了。”

据介绍，这个被认为是“生物学上的莱特兄弟首架飞机”“首次飞行”始于 2006 年 3 月份。当时，日本京都大学 Shinya Yamanaka 领导的研究小组在小鼠尾部细胞中插入一个四基因联合体，成功得到了类胚胎干细胞。2007 年 6 月，Yamanaka 和麻省理工学院鲁道夫·詹尼士以及哈佛大学康拉德·霍切林格领导的三项研究，改进了导入 4 种基因的载体以及 iPCs 的选择标记，并且证实了利用小鼠表皮细胞制得的 iPCs 确实是多能性的，具有分化成各种

组织的潜力。

“虽然将体细胞逆转为干细胞这一观点早有人提出，但始终没有人能做得出。”解亨解释说，“毕竟人体有 25000 个基因，如果进行排列组合，这种实验是不可想象的。”然而日本的山中小组将基因选择范围由 25000 个缩小到 20 个，又最终选中了 OCT3/4、SOX2、C-MYC 和 KLF4 这四种基因导入体细胞。“最初，没有人相信实验结果会如此的好，认为也许是个不可重复的实验，直到又有其他小组获得成功。”

美国的汤姆森小组则独自确定了 14 种新的候选重组基因。通过系统的排除过程，他们最终也使用了 4 个基因——OCT3、SOX2、NANOG 和 LIN28，其中前两个和山中小组是相同的。在提及技术推广前景时，汤姆森说：“人们不知道这有多容易。美国数以千计的实验室基本明天就能做到。”

尽管新的发现带来了巨大的希望，不过这两种技术都存在一些弊端。比如，用于携带 4 种基因的滤过性逆转录病毒载体会导致由 iPC 细胞发育成的组织中出现肿瘤。因此，研究人员和其他科学家普遍认为，下一步研究要通过开启基因的方式来实现重组，而不是插入新的副本。“这一技术的安全性问题是下一步需要着重解决的。”

“干细胞研究的发展实在是太快了，但新的观点、技术都是人提出来的，人才是关键！”谈到这一成果对于我国在该领域研究的影响和启示，此次香山会议的执行主席、同济大学校长裴钢院士认为，“临渊羡鱼，不如退而结网。我们不能再忽视基础研究了，我们在这方面的教训太多了。这一成果可以让我们看到新的研究发展方向，踏踏实实搞有我们自己特色的基础研究才行。”

BIO-RAD

Biomarker Discovery SELDI System Now Powered by Bio-Rad Laboratories

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

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

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



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

联系我们：

Bio-Rad CHINA Headquarter
Tel: 021-64260808
Fax: 021-64264988
Email: sales.china@bio-rad.com



成体干细胞能否干过胚胎干细胞？

这一直是一个问题！胚胎干细胞已经显示了治疗多种疾病的巨大潜力，尤其是神经损伤和器官衰竭以及神经退行性疾病，2008 年以胚胎干细胞为基础的治疗药物（技术）将进入临床研究。但是，胚胎干细胞来自胚胎，有“终止生命”之嫌，受到来自反“堕胎”组织的强烈反对，美国总统布什于 2001 年也颁布法令限制联邦基金支持胚胎干细胞研究。今年，布什总统再次否决参众两院“解除联邦基金对胚胎干细胞研究限制”的议案。科学家们一直在寻找新的获得具有胚胎干细胞特点的细胞来源。2007 年 11 月 21 日，美国和日本的两组科学家分别宣称，他们利用“再程序化”技术成功地诱导人皮肤细胞生成胚胎样干细胞株（系）。消息一出，不仅科学家，甚至白宫都为之震动，而以胚胎干细胞为基础进行治疗新药研究的上市公司股票应声下落。胚胎干细胞伦理学之争真的要结束了吗？

没有人否认这是一个“华丽”的科学研究。一篇论文发表在最近一期的 *Science* 上，美国威斯康辛大学华裔科学家余俊英（音译）博士为第一作者，胚胎干细胞研究的先驱 J. Thomson 博士为共同作者。他们利用病毒载体把特定的数个基因重组入人皮肤细胞基因组，获得的细胞系具有胚胎干细胞“无限”增殖和向其他组织细胞分化的特点。另一篇类似的论文发表在 *Cell* 上，由日本 Kyoto 大学前沿医学研究所的 Shinya Yamanaka 博士完成。研究者们声称他们正在奠定一条获得胚胎干细胞的新路，同时，这种细胞来自患者个体，在用于组织损伤修复移植时不会出现排斥反应（个性化治疗）。这一发现被喻为“无胚胎获得干细胞”技术。Thomson 博士是上个世纪 90 年代第一个分离出胚胎干细胞的科学家，他预言“这一发现最终会解决干细胞的来源，结束胚胎干细胞伦理学之争”。实际上，我国也一直开展类似研究，“成体干细胞可塑性”技术，只是没有什么像样的成果。

问题真地解决了吗？换个问法，以后就不再需要胚胎来源的干细胞了吗？远不到下结论的时候。总部在美国加州 Menlo Park 的

Geron 集团（Nasdaq: GERN）是胚胎干细胞治疗技术开发的最大上市公司，已经在胚胎干细胞产品的商业化上投入 1 亿美元，2008 年其治疗脊髓损伤的新药将进入临床，是胚胎干细胞最早进入临床的新药。Geron 集团的总裁兼首席执行官 Tom Okama 对“无胚胎获得干细胞”技术新发现颇为不屑，他认为这项技术“不可能产生任何成果，甚至不能对以干细胞为基础的细胞治疗研究进展产生任何影响。进行此类研究并声称能变革这一治疗领域的绝大多数研究者压根就不懂什么是细胞治疗”。他进一步指出，以这种技术为基础进行个性化治疗很难通过批准，无法规模化生产，其人工成本、时间成本和材料成本将远远大于胚胎干细胞技术。Okama 博士强调：“我们使用的胚胎并非人为终止生命获得，而是使用医源废弃物获得。”也曾有研究表明，只有胚胎干细胞诱导分化的心肌细胞才能在人体内存活。换句话说，成体细胞来源的干细胞与胚胎干细胞还是有显著不同。余俊英博士等人的发现，“诱导多效性干细胞（iPS）系只是具有人胚胎干细胞的基因表达特点，在体外小规模增殖几个月，诱导生成几种功能细胞，在很多特性上与胚胎干细胞相去甚远。”

全球最大的生物技术企业之一基因泰克 (NYSE: DNA) 的发言人 R. Snyder 女士在接受电话采访时说:“我们不用干细胞, 不在于我们同意或反对干细胞, 只是我们开发新药的途径就用不上干细胞。基因泰克不会因此研究成果改变自身的创新之路。”分析家认为 Snyder 女士的反应代表了众多大型制药企业的共同看法, 干细胞离治疗应用还有很多年。

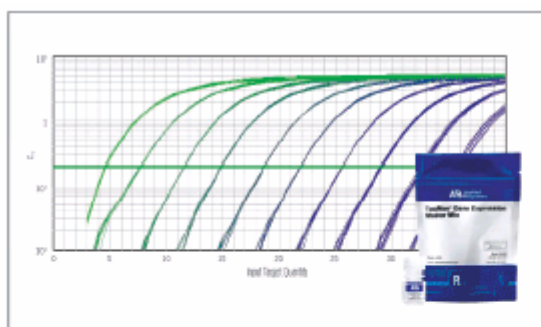
我们认为, 2008 年是关键的一年, 胚胎干细胞技术进入临床研究如果获得成功, 美国解禁胚胎干细胞研究禁令是迟早的事, 因为其他国家, 甚至美国的制药企业将大力开展胚胎干细胞研究。另一个关键是对生命的认识要有所改变, 以解决伦理学问题。成体干细胞进入治疗领域 10 年内希望渺茫。

完美表现
创造每日成功

买二送一
大促销

最新上市的两款优化 TaqMan Master Mix 试剂

活动日期: 2007.7.1-12.31

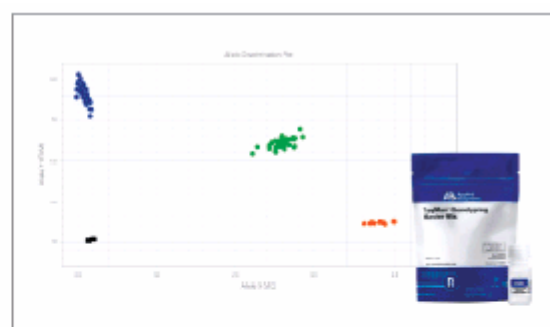


基因表达通用混合试剂

TaqMan® Gene Expression Master Mix

提供准确及灵敏的定量品质

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



基因分型通用混合试剂

TaqMan® Genotyping Master Mix

提供清晰及经济的识别效果

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

美国应用生物系统中国公司及办事处地址

 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



张雅鸥教授 microRNA 研究取得新进展

生物通报道: 越来越多的研究发现, 曾经被认为是 DNA 垃圾的非编码 DNA 在基因的调节中扮演关键角色, 其中近年来的一个研究热点——microRNA 分子就是基因组中这些“垃圾”所编码出的一种产物。而 MicroRNA 在高等生物基因表达中的作用也在逐渐为人们所认识。

在刚刚结束的第九届中国细胞生物学大会上, 来自清华大学深圳研究生院的女教授张雅鸥报告了她的研究团队在 microRNA (miRNA) 的基因结合位点方面的研究成果。

MicroRNA (miRNA) 是一类 20—24 个核苷酸长度的非编码 RNA, 它们主要通过转录后抑制或 mRNA 序列特异性降解来调节基因的表达。

张教授指出, 人们对 miRNA 功能的了解目前尚处于初期阶段, 而导致 miRNA 功能研究进展缓慢的其中一个主要原因是 miRNA 的作用规律非常复杂, 而我们对 miRNA 进行基因调节的普遍规律知道的太少。就目前所知, 平均每条 miRNA 的作用靶标基因就超过 50 条, 而每条基因又可被上百条 microRNA 所调节, 因此作用规律复杂程度可想而知。

在他们的研究中, 张教授的研究团队预测了 miRNA 在 VEGF 基因上的结合位点, 以及候选 miRNA。她的研究组自己开发了一个 miRNA 靶基因预测软件 Find “Tar”。张教授指出, 由于 miRNA 靶基因预测非常复杂, 不同软件预测的 miRNA 结合位点和候选 miRNA 重复性很差。因此, 他们不敢只利用一个软件进行预测, 而是同时联合使用了三个预测软件——两个常用的 miRNA 预测软件和他们自己开发的 Find “Tar”软件。

在预测过程中, 有两个软件的预测结果一

致时才算作一个候选 miRNA。尽管如此, 获得的结果仍然不尽人意, 难坏了她的学生。他们在 VEGF 上发现了 109 个 miRNA 结合位点, 而候选 miRNA 则有 96 个。如果要用生物学方法去逐个验证, 复杂程度、工作量之大可以想象。

因此, 他们又进一步用 miRNA 表达谱来分析 VEGF 表达如何受到候选 miRNA 的调节, 以此来缩小范围。

研究组将来源于人类鼻咽癌细胞系的 CNE 细胞作为调查在低氧诱导情况下 miRNA 介导的 VEGF (血管内皮细胞生长因子) 和其他血管形成因子调节的一个细胞系统, 希望藉此能够了解 miRNA 进行基因调节的原理。

分析结果显示, 在低氧诱导条件下, 发生下调的 miRNA 有 13 条, 而上调的则有 6 条 miRNA。因为, 已经知道 VEGF 在低氧诱导下是上调的, 因此暗示出这发生下调的 13 条 miRNA 与 VEGF 在低氧条件下的表达上调有关。继而, 他们在这 13 条 miRNA 中发现四个 miRNA 在 VEGF 基因上有结合位点, 即与 VEGF 的上调有关。之后, 他们又用生物学方法验证了这些发现。

张教授的研究组还发现 VEGF 受到多种 miRNA 以不同联合方式的调节, 包括共调规律、差异调节规律和竞争规律。共调规律就是指, 在一个基因中具有独立结合位点的

miRNA 能够协同行动来增加 miRNA 基因对该基因的抑制作用。而竞争竞争规律则是,当多个 miRNA 相互间竞争一个共同的结合位点或一个功能 miRNA 与一个假阳性 miRNA 竞争同一个结合位点时, miRNA 的抑制作用可能会被削弱。

张教授还表示,目前他们开发出的 Find “Tar”软件正在修改尚未发表,而这项研究的部分结果已于去年底发表在 PLoS ONE 杂志上。(生物通杨遥)

附: 张雅鸥教授简介



教育与科研经历: 华西医科大学获医学学士、硕士、博士学位(心血管学、血液学专业)。1996-1999 年加拿大多伦多大学 Sunnybrook 医院博士后,从事细胞外基质与疾病关系的研究。1999-2001 年,美国哈佛大学医学院和加州大学旧金山分校博士后研究员,从事组织蛋白酶在细胞外基质的重组和心血管疾病中的作用研究。2001-2003 年,香港城市大学高级研究员,从事功能基因组研究。2004 年 2 月受聘清华大学深圳研

究生院副教授。2004 年 11 月受聘为清华大学深圳研究生院教授。

主要的学术特点和研究方向: 以医学细胞及分子生物学为研究领域,在微小 RNA 的靶基因预测和功能研究; 心血管、肿瘤、创伤修复及肝纤维化等疾病的分子机理及病理基因组学等方面有一系列前沿性研究。

目前研究方向为 1. 小分子的 RNA

(miRNA 和 siRNA)对基因表达的调节及其在心血管疾病和抗肿瘤治疗中的应用; 2. 骨髓基质细胞的分化机理; 3. 细胞外基质与疾病关系; 4. 功能基因组学。1998 年以来共发表国外 SCI 文献 22 篇, 被引用 400 多次。其中作为第一作者和通讯作者发表的 SCI 文献 10 篇。SCI Impact Factor 14 分以上 1 篇, 7 分左右 3 篇。

主要课题:

1. Pleiotrophin 调节骨髓间充质来源细胞分化的机理研究(国家自然科学基金)。
2. 微小 RNA 对 pleiotrophin 和其它血管生成因子表达的影响(国家自然科学基金, 中加合作基金)
3. 人乳头瘤病毒(HPV)感染和宫颈癌的基因治疗(清华大学深圳研究生院项目)。

抗肿瘤血管生成的 siRNA 药物的研发(深圳市事业单位科技计划项目)。



武汉市晶赛生物工程技术有限公司
RNAi 专业技术公司

领先的 RNA 干扰技术 全面的产品和服务
一个载体编码多条 shRNA/腺病毒, 更多...

原代细胞分离系列试剂盒
primary cell isolation kit
武汉晶赛生物工程技术有限公司
技术领先的 RNAi/miRNA 产品/服务

武汉晶赛生物工程技术有限公司
同一载体多个
shRNA/RNAa/ miRNA/proteins
天然 microRNA 库
shRNA/RNAa/ miRNA/proteins
腺病毒、慢病毒



07 候选院士聚焦细胞生物学前沿研究

生物通报道: 2007 年 11 月 3 日, 为期三天的“中国细胞生物学学会第九次会员代表大会暨青年学术大会”在广州召开, 出席此次大会的各地细胞学会代表达 600 多名, 生物通作为生命科学媒体参与了此次大会, 并进行了相关采访。

中国细胞生物学学会 (Chinese Society for Cell Biology, 简称 CSCB) 是中国科学院上海细胞生物学研究所前所长庄孝惠、副所长和汪德耀, 罗士韦, 郑国锷等国内著名细胞生物学家于 1979 年筹备, 1979 年 3 月经全国科学技术协会 (中国科协) 主席团批准, 在 1980 年正式成立的全国性学术团体。

此第九次大会主要围绕细胞生物学这一生命体最基本单元进行研究的学科, 针对细胞生物中最关键、最热门、最前沿的研究展开讨论。会上不仅有许多泰斗级的学者参与了演讲讨论, 也有一些知名的青年科学家发表了专题学术报告, 比如最新在权威细胞杂志《Cell》上发表有关类泛素蛋白酶研究论文的程金科博士做了题为“SENPI 对维持HIF1 α 在缺氧条件下的稳定性是必须的”学术报告 (具体新闻见[上海交大等最新《细胞》挑战原有类泛素蛋白酶理论](#))。

另外, 知名的神经生物学教授, 07 候选院士张旭博士也就镇痛类药物的细胞信号传导方面的基础研究进行了专题报告, 在报告中, 他提到其课题组观察到 δ 阿片受体主要分布在胞浆中 LDCV (大致密囊泡) 膜上, 只有少量的 δ 阿片受体分布在细胞膜上, 伤害性刺激引起 LDCV 吐泡, 可导致细胞膜上的 δ 阿片受体的数量泽国能夺, 介导内源性脑肽的镇痛作用。

以往的药理学和基因突变等研究表明 δ 阿片受体对 μ 阿片受体的镇痛功能存在负性调制作用, 参与吗啡镇痛耐受的形成, 而其课题组最新研究发现, 在表达 δ 和 μ 阿片受体的细胞中, 细胞表面上的 δ 和 μ 阿片受体相互作用, 在受体特异性激动剂刺激下, 可引起两种受体的共同内吞, 内吞后两种受体在同一细胞内途径上进行处理, 其中 δ 阿片受体激动剂可导致 δ 和 μ 阿片受体进入降解途径, 导致细胞表面 μ 阿片受体显著减少, 从而减弱吗啡的镇痛作用。

吗啡、杜冷丁等麻醉台上常用的阿片类药物, 在让病人忘记疼痛的同时, 也会产生耐药性, 让人既爱又恨, 到底是什么让吗啡等阿片类镇痛药物药效降低、产生耐药性, 甚至令人嗜药成瘾的呢? 这一课题正是张旭课题组研究的重点之一, 在 2005 年张旭博士在《Cell》杂志上揭示了吗啡镇痛作用的新原理, 发现了斩断吗啡等阿片类药物耐药性的关键分子, 引起了神经细胞生物界的瞩目。这篇文章也代表着中国内地原创成果 25 年后再次登上顶级自然科学杂志《Cell》, 具有非同寻常的意义。

此次学会上, 张旭对其研究小组获得的最新研究进行了阐述, 这些结果说明在体干预 δ 和 μ 阿片受体的相互作用是一种增强吗啡等 μ 类镇痛药物镇痛作用的新策略。(生物通: 万纹)

附：张旭

所系名称 神经科学研究所

性别 男

专业名称 神经生物学

技术职务 研究员

行政职务 课题组长

研究方向 感觉传递机制

研究工作

一、背根节神经元基因表达水平的长时程可塑性研究

为了全面了解外周神经损伤后初级感觉神经元(背根节神经元)基因表达水平的变化,我们首先建立了大鼠的基因表达文库,运用基因芯片技术比较了正常大鼠与外周神经损伤后 2 天、7 天、14 天和 28 天大鼠背根节基因表达水平的变化。通过检测 7523 条基因,并用 RT-PCR 和分子原位杂交技术进行证实和细胞定位,发现有 122 条基因与 51 条 EST 的表达量有显著性变化,包括神经肽、受体、离子通道和信号转导分子等。同时进一步发现部分基因是或可能成为镇痛药的靶点。本研究将进一步对在外周神经损伤和外周炎症时发生调节的功能不清和新基因进行研究。

二、背根神经节与脊髓背角结构上的长时程可塑性研究

外周神经切断诱导初级传入的 A β 纤维在脊髓的投射由 III-IV 层长入 I-II 层,此结果被认为是神经源性痛的解剖学基础之一。然而,我们通过标记背根神经节小神经元中特异性的物质,结合神经切断前霍乱毒素 B 亚单位(CTB)束路追踪技术,发现坐骨神经切断后只有少量 A β 纤维长入内 II 层,外 II 层和 I 层中没有观察到长芽的纤维。而少量长芽的纤维在 II 层可形成突触连接,有可能形成异

常的神经回路,可能是神经病理性痛的成因之一。外周神经损伤条件下异常神经网络的形成与痛敏直接相关,我们将对异常神经网络和其分子机制进行进一步研究。

三、背根神经节神经元的短时程可塑性研究

阿片受体在痛觉传递中起十分重要的作用。在正常情况下, m 阿片受体主要位于初级感觉神经元的膜上, d 阿片受体则主要位于初级感觉神经元的胞浆内,且位于胞浆内的大致密芯泡膜上,这些大致密芯泡内含有 P 物质和降钙素基因相关肽等神经肽。我们的研究证明该受体是通过在神经肽分泌泡的特异性分布,形成特异的正反馈调控机制,即激动 d 阿片受体导致该受体在极短时间内进一步嵌入胞膜,保持神经元对阿片物质的敏感性,能够使神经肽在短时间内从神经元中排空,同时减少 d 阿片受体的储存。这些结果对阿片受体介导的疼痛治疗可以提供一种新的观点,炎性疼痛的治疗可以不仅激活 m 受体,而且或许需阻断 d 受体。进一步的研究将集中在受体分选、运输和上膜及神经肽分泌的分子机制。

以上研究一方面揭示了神经元基本活动的分子和细胞机制;另一方面为疼痛的发生和发展、神经的再生提供了理论基础,一些与痛的发生和发展有关的重要机制和一些重要分子的发现,为寻找新的镇痛方案和新药开发提供重要的线索。

获奖情况

1992 中国人民解放军科学技术进步一等奖(第三作者)

1995 国家杰出青年基金(A 类)

1996 中国人民解放军科学技术进步一等奖(第一作者)

1998 国家杰出青年基金 (C 类)

1998 第六届中国青年科学家奖

个人简介

1985 年 9 月-1987 年 4 月 第四军医大学
神经生物学教研室助教

1987 年 5 月-1988 年 1 月 瑞典 Stockholm
大学超微结构研究室访问学者

1988 年 2 月-1990 年 9 月 第四军医大学
神经生物学教研室助教

1990 年 10 月-1994 年 7 月 瑞典卡罗琳斯

卡医学院神经科学系博士研究生, 获博士学位

1994 年 8 月-1994 年 11 月 第四军医大学
神经科学研究所讲师

1994 年 12 月-1997 年 11 月 第四军医大
学神经科学研究所副教授

1997 年 12 月-1999 年 11 月 第四军医大
学神经科学研究所教授, 博士生导师

1999 年至今 中国科学院神经科学研究
所课题组长, 研究员



我期盼转染后更多的细胞是活的!!

你可以试试Novagen新型超低细胞毒性的

低毒转染试剂——GeneJuice®

7折优惠试用招募中

数量有限, 预订从速!



转染效率高

Novagen新开发、上市的GeneJuice™ 转染试剂以高转染效率、使用方便、细胞毒性小为设计宗旨, 在实际使用中获得了非常理想的效果。GeneJuice的新型小分子多胺配方克服了常见的阳离子转染试剂带来的细胞毒性作用, 更适合做长效和瞬时转染。使用这种新的转染试剂时完全不需要更换细胞培养基, 操作比其它试剂明显方便, 也是使用者选择GeneJuice的重要原因。

GeneJuice在Novagen科学家和用户的实际研究中获得了很高的评价, 参考文献和应用细胞系不断增加。敬请登陆www.novagen.com/transfection查阅文献全文。

细胞毒性极低

- 细胞转染后存活率高, 细胞活性好
- 转染后蛋白表达产量高

更经济便宜

- 用量少, 单次成本低至6元!
- 6孔板每孔转染仅需2ul, 1ml转染试剂可以完成500次转染
- 适合高通量操作

使用更方便

- 适用于瞬时及稳定转染, 转染效率高 (包括多种原代培养细胞的转染)
- 操作简便, 不需更换培养基
- 众多文献支持 (80种细胞转染的引用文献)
- 包装多样、灵活 (0.3ml, 1ml, 10ml, 5×1ml)
- 提供中英文操作说明书

垂询热线: 400-820-8872, Email: bioteam@merck-china.com

Merck Biosciences

Calbiochem | Novabiochem | Novagen



孟安明教授研究组 斑马鱼神经干细胞研究新进展

生物通报：斑马鱼是目前生命科学研究中重要的模式脊椎动物之一。清华大学生物科学与技术系孟安明教授的课题组对特定基因在斑马鱼神经干细胞中的功能进行了深入研究，发现 sp8 基因和 sp8-like 基因有抑制初级神经元形成的作用，而且两个基因能够协同工作。

Sp8 属于锌指转录因子家族成员，它特异性的表达在中枢神经系统和肢芽。有文献报道斑马鱼的 Sp8 对于次级神经元中 gata-2 的不表达是必需的，暗示了 sp8 可能参与了次级神经元的分化。

研究中，课题组通过显微注射 sp8 和 sp8-like 的 morpholino 和 RNA，选择初级神经元的标记基因进行原位杂交，并发现降低体内 sp8 和 sp8-like 表达水平导致标记基因表达升高——这意味着初级神经元形成增多，而过量表达外源相应基因的胚胎结果相反，则说明 sp8 和 sp8-like 基因在体内有抑制初级神经元形成的作用，而且这两个基因的功能是协同的。

为了进一步证明上述结果，研究组选择了转基因斑马鱼 TG::huC(S)-GFP(M4-GM2)作为研究模型，其中 GFP 特异表达在背侧的初级 RB 神经元中。他们发现抑制 sp8 和 sp8-like 基因表达能够协同促进初级 RB 神经元的形成。

在这些结果基础上，研究人员推测 sp8 和 sp8-like 基因在体内的作用可能是抑制神经干细胞分化为初级神经元，维持其增殖的特性，并在特定的时期促进其分化为次级神经元。

为了证明以上假设，他们利用转基因鱼 TG::GATA2-GFP（其中 GFP 特异的表达在次

级神经元中）发现减少体内的 sp8 和 sp8-like 基因的表达能够协同的减少次级神经元的形成。利用次级运动神经元特异性的抗体，通过免疫组化实验，研究人员重复了上述结果。

为了证明 sp8 和 sp8-like 基因在体内能够维持神经干细胞的增殖，研究组通过 BrdU 的免疫组化，发现注射 morpholino 的胚胎神经管中增殖的细胞数减少，进一步证明了上述假设。

孟安明，项目首席科学家。现任清华大学生物系副系主任，教育部长江学者特聘教授，校学术委员会委员，兼任中国动物学会副理事长、中国细胞生物学会理事、Asia-Pacific Developmental Biology Network 组委会委员。2000 年获得国家杰出青年基金、香港求是基金会“杰出青年学者奖”、教育部优秀青年教师奖。1990 年在英国诺丁汉大学遗传系获得博士学位；1990—96 年在中国农业大学生物学院先后做博士后和任副教授。

1996—1998 年在美国佐治亚医学院做访问研究，在世界上制备了第一例组织特异性表达 GFP 的转基因脊椎动物，建立了利用活体胚胎对多组织表达基因的调控机制的研究技术。98 年回国到清华大学任教授，在国内建立了第一个专门以斑马鱼为对象开展脊椎动物胚胎发育机制前沿研究的实验室。近几年来，克隆了 100 多个胚胎组织特异性表达的新

基因, 利用 DNA 芯片技术发现了几个 FGF 信号的新的介导因子和抑制因子, 还发现了一种调控 Nodal 信号的中胚层诱导作用的新机理。迄今已在包括 Science、EMBO J.、Dev. Biol. 在内的国际知名刊物上发表数十篇论文, 已被引用近 500 次。

孟安明教授的研究领域是发育生物学。利用斑马鱼为模式动物, 研究胚胎早期发育中的中胚层诱导作用、神经诱导作用、背腹分化和前后轴线分化的分子机理。2004 年他所领导的研究组发现了调控动物胚胎中胚层形成的一种新机理, 是我国发育生物学领域中的一个突破性成果。

孟安明课题组曾通过对斑马鱼 Dapper2 (Dpr2) 基因的功能研究, 发现了一种抑制 Nodal 信号的中胚层诱导活性的新机制。Dpr2 基因在斑马鱼晚囊胚和早期原肠胚的中胚层前体细胞中特异表达, 其表达过量或不足均引起严重的胚胎发育缺陷。在胚胎中抑制 Dpr2 的活性后, 两个 Nodal 基因 Sqt 和 Cyc 的表达增强, 其自身的表达也增强, 另一些中胚层标记基因也增强表达, 中胚层组织增加; 而在胚胎中过量表达 Dpr2 后, 有关的中胚层标记基因的表达减弱, 部分中胚层组织发育不全; 另一方面, 抑制 Dpr2 的表达可以减弱 Lefty1 对 Nodal 信号的抑制作用, 也可以使 Nodal 信号缺失突变体 oep 的缺陷表型部分地恢复正常。这些结果表明, Dpr2 的正常功能是抑制 Nodal 信号的活性。

在体外系统中的实验表明, Dpr2 的过量表达同样可以抑制 TGF β 的信号转导。Dpr2 蛋白定位在晚期胞吞体中, 它主要与激活并胞吞后的 TGF β 受体结合, 可能促进携带了 TGF β 受体的晚期胞吞体向溶酶体运动, 从而促进这些受体在溶酶体中的降解。该研究成果

加深了对胚胎中胚层组织发育的调控机理的了解, 对于研究人类出生缺陷的遗传机理有借鉴意义。该项研究成果发表在著名的 Science 杂志上并被评选为 2004 年度“中国高等学校十大科技进展”之一。

[清华大学孟安明联合香港科大发表最新科研成果](#)

来自清华大学生物膜和膜生物工程国家重点实验室的长江学者孟安明教授和香港科技大学的林盛才 (Sheng-Cai Lin, 音译) 博士在 8 月的 Development Cell 杂志上公布了有关斑马鱼胚胎发育调控的新发现。

β -Catenin (β -连环蛋白) 是一种普遍存在的胞浆蛋白, 是细胞内十分重要的信号分子, 1989 年和 γ -Catenin 一起作为钙粘素结合蛋白被发现。最初发现 β -catenin 是细胞粘附连接成分之一, 另外还是参与 Wnt 信号通路传导的关键因子。已经知道, 母体因子 β -连环蛋白和 Nodal 信号对 dorsal organizer 的形成至关重要, 后者继而诱导脊椎动物胚胎中神经和其他脊椎组织的发育。

Tob (ErbB2 的传导因子) 蛋白具有抗增殖的特征, 并且能够影响 BMP 信号途径。但是它们与其他信号途径以及胚胎模式形成过程的关系还不清楚。

在这项新的研究中, 研究人员证实斑马鱼 tobla 是形成正确的背腹模式必须的。Tobla 能够通过 β -Catenin 联合并抑制 β -catenin/LEF1 复合体的形成来抑制 β -catenin 的转录活性。

尽管 Tobla 还能抑制 Nodal 受体 Smad3 的转录或许, 但是它抑制脊椎发育的功能主要是通过拮抗 β -catenin 信号来执行的。研究人员还进一步证实不同物种的 Tob 家族成员具有相同的生化特性和生物学功能。



王红阳院士肝癌早期诊断获重大突破

生物通综合：来自东视新闻的消息，11月19日，第二军医大附属东方肝胆医院在国际合作生物信号转导研究中心成立10周年庆祝仪式上对外披露，经过多年研究和临床实验，中心在肝癌诊断标志物方面获得重要成果。用新发现的MXR7基因作血清学诊断指标，可大大提高验血筛查肝癌的准确率。

由王红阳院士率领的课题组“肿瘤的细胞信号转导网络调控”取得重大进展，采用“甲胎蛋白+MXR7”联合血清学检测方法，可使肝癌血清学早期诊断率提高至80%以上。

甲胎蛋白作为肝癌血清学早期诊断的指标之一，为早期诊断做出了巨大贡献。然而，近年来，在临床上发现肝癌患者中甲胎蛋白假阳性和假阴性率偏高。据保守估计，凭借单一的甲胎蛋白血清学检测早期肝癌的漏诊率约在80%以上。

研究组发现，MXR7基因在中国人血清中是一种肝癌的高表达基因，因此可以作为肝癌血清学早期诊断的新指标。大量实验证明，目前临床验血诊断甲肝使用的甲胎蛋白指标，对肝癌的漏诊、误诊率高达60%。而如果将MXR7与甲胎蛋白联合使用，诊断准确率则可以提高到80%。

国际医学界称MXR7基因是最具有运用前景的肝癌早期诊断血清学指标。如今，MXR7单克隆抗体及其应用已获得中国和美国专利授权。不久，人们通过验血方法，可以简单、准确地筛查肝癌。王红阳院士表示，肝癌早期诊断具有重大意义，它能大大提高患者的五年生存率。

1999年，王红阳院士领导的课题组首次在《世界胃肠学杂志》报告了最新研究成果：

通过对1000例血清样本，其中300例肝癌患者进行的相关回顾性研究发现，在中国肝癌患者中，MXR7基因呈现高水平表达。6年之后，MXR7被医学界公认为最具应用前景的肝癌早期诊断血清学筛查指标。

据了解，目前该中心已拥有MXR7单克隆抗体及其应用的中国和美国专利授权。博士研究生陈磊在该实验室前期研究肿瘤相关Wnt信号通路的基础上，又发现了Wnt通路在胰岛细胞和胰腺癌中新的调控机制，由孔晓妮、鄢和新等人完成的研究论文，日前被国际权威期刊J.E.M（影响因子14.5）接受发表。

王红阳，女，肿瘤学、分子生物学专家。出生于江苏省徐州市，原籍山东省威海市人。1992年毕业于德国乌尔姆大学，获博士学位。曾任德国Max-Planck研究所生化所P.I。现任上海东方肝胆外科研究所副所长；信号转导研究中心主任、教授；东方肝胆外科医院综合治疗二科主任、主任医师。长期从事肿瘤的基础与临床研究，对肿瘤信号转导有重要建树。97年学成回国创办国际合作生物信号转导研究中心和综合治疗病区，形成基础与临床结合的创新基地。在分子诊断方面，研发了新的肝癌诊断标志物及血清检测单克隆抗体，获国家专利；克隆新的肝癌相关基因4个并阐明功能；首次发现新的抑制性受体对肝癌细胞生长、调

下转 P39 页



厦大杨玉荣等： RNAi 技术研究线虫寿命因子

生物通报道：线虫是生命科学研究领域广泛使用的一种模式动物，对它的研究帮助研究人员了解多种生命现象。其中，近年来，来自国内外的研究人员在线虫寿命影响因子方面取得了不少令人注目的进展。

厦门大学生命科学学院杨玉荣副教授的研究组就对影响线虫寿命的细胞因子进行了深入的研究。通过使用 RNAi 技术，他们证实了 TR3(孤儿受体)和 NHR-101 对秀丽隐杆线虫寿命的影响。

已经知道，核受体(NR)是位于细胞核内或者与相应配体结合后由胞浆转到细胞核内的一大类受体，属于配体活化的转录因子。核受体与相应的配体及其辅调节因子相互作用，调控基因的表达，在机体的生长发育、新陈代谢、细胞分化及体内许多生理过程中发挥重要作用。

而孤儿受体 TR3/nur77 与固醇类激素受体结构相似，可被多种生长因子或凋亡诱导剂诱导表达，参与了动物体的细胞增殖、分化发育和凋亡过程。当细胞收到凋亡诱导剂刺激后，TR3 基因表达升高，其产物从细胞核移位至线粒体膜，引起细胞色素 c 释放，从而导致细胞凋亡即 TR3 的转录激活功能。

在研究中，杨玉荣研究组构建出 TR3 的 RNAi 载体，通过细菌介导 RNAi，利用喂食法观察了秀丽隐杆线虫野生型 N2、daf-16(CF1038)和 daf-12(CF1370)突变体寿命的变化。

实验显示，通过喂食 TR3 和 RNAi 食物，线虫的寿命都有了不同的变化，其中 N2 在 TR3 的 RNAi 情况下平均寿命相对于对照组

的 N2(喂食含 L4440 空载体的 HT115 菌)的平均寿命延长了 8.53%；daf-16(CF1038)突变体在 TR3 的 RNAi 情况下的平均寿命相对于 control daf-16(CF1038)(喂食含 L4440 空载体的 HT115 菌)的平均寿命延长了 13.71%；daf-2(CF1370)在 TR3 的 RNAi 情况下的平均寿命相对于 control 的 daf-12(CF1370)(喂食含 L4440 空载体的 HT115 菌)的平均寿命延长了 15.68%。

研究人员介绍说，NHR-101 属于核激素受体家族，目前关于 NHR-101 的研究还不是很。他们运用构建好的 nhr-101 的 RNAi 食物，用喂食法观察了秀丽隐杆线虫野生型 N2、daf-16(CF1038)和 daf-12(CF1370)的寿命的变化。

实验结果显示，N2 在 nhr-101 的 RNAi 下平均寿命相对于对照 N2(L4440)的平均寿命缩短了 55.23%；daf-16(CF1038)在 nhr-101(RNAi)的情况下，平均寿命相对于对照 N2(L4440)的平均寿命缩短了 23.81%；daf(CF1370)在 nhr-101 的 RNAi 情况下平均寿命相对于对照 daf-2(CF1370)(L4440)的平均寿命缩短了 58.90%。

Daf-2 和 daf-16 是类胰岛素/IGF 信号通路的两个成员，研究组观察了 daf-16::GFP(CF1407)虫株在 RNAi 下 GFP 的分布情况。用 L4440 的空载体作为对照，他

们发现通过喂食 TR3 和 nhr-101 的 RNAi 的食物,有更多的 GFP 进入细胞核,核 GFP 表达的数目相对于对照明显的增多,表明 TR3 和 nhr-101 对寿命的影响依赖于 daf-16。

研究组表示,接下来他们将对 TR3 和 nhr-101 的 RNAi 对线虫不同虫株寿命的影响进行分析,并进一步研究 nhr-101 和 daf-16 的相互作用。

此前,《自然·遗传学》杂志上发表文章称,来自美国加利福尼亚大学旧金山分校生物学家辛西娅·凯尼恩领导的研究小组发现,一种体型极小、生命周期仅为 3 天的秀丽隐杆线虫体内的 DAF-2 基因发生变异后,这些线虫寿命比正常情况延长 1 倍。研究人员在线虫体内发现具有“防癌延寿”双重功效的基因。

通过对 734 个受到 DAF-2 影响的基因进行筛选后,研究人员发现其中 29 种基因能促

进或抑制癌细胞的生长。这 29 种基因中,又有一半的基因同时对线虫寿命发挥影响。当 DAF-2 变异后,促进癌细胞生长的基因就不能正常表达了,只有抑制癌细胞的基因还在表达,结果线虫的寿命延长了。研究的负责人表示,人体内也存在类似线虫体内的“防癌延寿”基因,他们的这项研究有利于帮助找到既能延长人类寿命、又使人类免患癌症的方法。(生物通雪花)

人物简介:

杨玉荣,副教授,硕士生导师,1987 获厦门大学理学学士学位;1990 年获厦门大学理学硕士学位;1996 年获厦门大学理学博士学位;1996 年被评为厦门大学生命科学学院讲师;1999 年评为副教授;2003 年评为硕士生导师。她在 2001.3—2002.4 间赴哈佛大学分子与细胞生物学系 Hunter Lab 做访问研究学者。

上接 P37 页

亡的调控机制和癌基因 P28 在肝癌的异常信号通路,为肝癌防治提供了新的靶标;分离新的磷酸酶 3 种,提出新的酶分类法;发现了磷酸酶 PCP-2 调控 β -catenin 介导的肿瘤信号通路,与同行合作提出新的抑制性受体调控机制在多器官存在的新概念。在 Gastroenterology、

Nature、Hepatology 和 Oncogene 等发表论文 75 篇,影响因子 190 分,SCI 引用 527 次;申报专利 9 项(国际 1 项),授权 4 项。获何梁何利科技进步奖、军队科技进步一等奖和上海医学科技一等奖。2005 年当选为中国工程院院士。(生物通雪花)



2007赛默飞世尔中国生物实验室安全调查

主办单位:



协办单位:





宋今丹教授研究组： 大肠癌单克隆抗体研究

生物通报：大肠癌是严重威胁人类健康的一种疾病。我国的大肠癌发病率已上升到了第三位。来自中国科技大学卫生部细胞生物学重点实验室的宋今丹教授的研究组和沈阳医学院生物化学教研室伊德林等人在人大肠癌单克隆抗体临床应用研究上取得了新发现。

一般认为，结肠腺瘤是一种癌前病变，通常由腺瘤演变成癌的时间约为 10 到 15 年。早期大肠癌是可以治愈的，预后较好，五年生存率为 91%，而晚期仅为 7%。然而早期大肠癌缺乏特异性，临床表现往往无症状或症状不典型，易于被忽视，患者就诊时有 50% 到 60% 已属于晚期。因此，早期诊断、早期治疗是提高生存率和生存质量的关键。

Gold 等在 1965 年首次在胎儿和人大肠癌中发现 CEA，以后大量的研究表明，许多人体其他组织的肿瘤也不同程度的显示 CEA 阳性，因其在结肠癌中表达最强最常见，被公认为是大肠癌的表面标志。由于 CEA 缺乏特异性，患者血清 CEA 水平增高并不能完全作为恶性肿瘤早期发现的标志。以 CEA 为靶抗原进行的单克隆抗体在肿瘤诊断和治疗中应用的研究开展的最早也最深入。这项研究则对另外一种叫做 LEA 的大肠癌相关抗原的单克隆抗体进行了深入分析。

LEA (Large External Antigen) 是一种大分子量的可溶性大肠癌相关抗原，位于细胞表面的细胞膜，分子量大于 500kDa，属于糖蛋白，与 CEA 等已报道的其他肿瘤相关抗原抗原性不同，在 90% 以上的人大肠癌细胞系中表达，在大肠癌组织中具有较强特异性，在人类非大肠癌细胞系和非人类细胞系中均不表达。

这个联合研究组应用抗人大肠癌单克隆抗体 ND-1 对大肠癌组织进行免疫组织化学染色研究，进一步证明抗人大肠癌细胞膜表面抗原 LEA 的单克隆抗体 (ND-1) 有很高的特异性，为进一步应用此抗体进行临床病理诊断、血清学检测、体内定位诊断和导向治疗等提供了有力依据。

研究中，他们共分析了 270 例大肠癌标本，其中高分化腺癌 48 例，中分化腺癌 65 例，低分化腺癌 27 例，印戒细胞癌 6 例，大肠腺瘤 41 例，大肠癌旁黏膜 32 例，正常大肠黏膜 27 例。

分析表明，LEA 的表达与肿瘤分化程度有关，癌组织分化程度越高，阳性率及阳性强度也越高，而 LEA 对高分化腺癌表现出更高的选择性，正常黏膜中，多为阴性。与 CEA 相比，LEA 在非癌组织中表达的阳性率较低。LEA 在腺瘤中表达的阳性率，明显高于癌旁黏膜和正常黏膜。LEA 在大肠癌与腺瘤组织的表达阳性率虽略低于 CEA，但无统计学差异。LEA 在正常黏膜标记阳性率明显低于 CEA，腺瘤和大肠癌中 LEA 表达阳性率与正常黏膜，癌旁黏膜相比，有极显著的差异。这些结果显示，ND-1 单抗对大肠癌的特异性强于抗 CEA 单抗。LEA 可能是一种与细胞分化相关的肿瘤抗原，LEA 可作为临床早期辅助诊断和治疗的靶抗原。

宋今丹教授，博士生导师，是卫生部细胞生物学重点实验室学术委员会主任，中华医学会医学细胞生物学分会主任委员。

宋教授主要进行大肠癌细胞的内质网结构及其合成的某些蛋白质研究。是国家科技攻关项目“大肠癌单抗研制及其临床应用”主持人，研制成功的由杂交瘤细胞内质网分泌的大肠癌单抗，正试用于诊断、治疗和导向手术。是国家自然科学基金重大项目“正常、癌变和侵袭性癌细胞内质网膜系统研究”主持人，获得的正常与大肠癌细胞内质网结构及其合成的某些蛋白的重大成果，是国内外尚无人开展的开创性研究，逐步形成具有特色的新研究领域。

宋教授从事医学细胞生物学科研、教学 40 余年，为我国医学细胞生物学主要奠基人和开拓者之一。15 项科研项目负责人，其中国家科技攻关项目 2 项，国家科技部中试开发项目（863 项目）1 项，国家自然科学基金重大项目 1 项。主要进行大肠癌细胞内质网结构及其合成的某些蛋白质的研究。在美国哈佛大学医学院进行科研合作期间（1982,11-1985,11）由于科研成就突出，被由客座副教授提升为正教授。宋教授在国内外发表文章 204 篇，经查 SCI 被引用 308 次。出版著作 12 部，其中主编 4 部，享受国务院发给的政府特殊津贴。

年终超级礼遇



年终礼物兑换券>>

QIAGEN 年终超值回馈！
精彩好礼任你选！

活动时间：2007 年 11 月 15 日至 12 月 31 日

活动内容：活动期间累计购买 QIAGEN 试剂达到如下金额，即可获得 QIAGEN 送出的年终精彩礼物。

满 10000 元，即可获得价值约 **300** 元



美的电磁炉

或



名牌床品

满 50000 元，即可获得价值约 **2500** 元



松下 FX33

或



Nokia N73

满 20000 元，即可获得价值约 **800** 元



品牌拉杆箱

或



120G 移动硬盘

满 100000 元，即可获得价值约 **6000** 元



优源数码相机

或



ipod nano



JVC DV

或



HP 笔记本

满 30000 元，即可获得价值约 **1500** 元

备注：购物金额以送货单为准。仪器与仪器用试剂耗材不参加此次活动。

礼品以实物为准，图片仅供参考。以上礼品价值可能因地区不同有所差异。如出现缺货，以等值同类产品代替。

凯杰生物技术(上海)有限公司保留此次活动最终解释权。



重庆大学、第三军医 大毛囊干细胞研究新进展

生物通报告：重庆大学生物工程学院院长杨力教授和第三军医大学细胞生物教研室杨恬组成的联合研究组在毛囊干细胞的纯化、诱导分化研究上取得了新成果。

毛囊干细胞是成体干细胞的，存在于毛囊上部的隆突区，在动物毛发脱落和再生的循环中能反复生成毛发组织细胞。此前，美国研究人员在美国《国家科学院学报》上报告说，他们利用从老鼠皮下毛囊中获取的成体干细胞首次成功克隆出小鼠。一成果可望提高动物克隆的成功率。研究人员指出，毛囊干细胞容易获取，自我更新能力强，并能分化成多种类型的体细胞，利用其进行动物克隆，成功率可望提高至 5 % 以上。

杨力教授的研究组利用免疫磁珠法对大鼠 CD34+毛囊干细胞进行了纯化。免疫磁珠分选（magnetic activated cell sorting, MACS）技术是一种集合了免疫学、细胞生物学、磁力学等知识于一体的高度特异性细胞分选技术，其高度特异性来自抗体对抗原的特异性识别。

该研究组通过对毛囊细胞悬浮进行 CD34 抗体标记和磁珠标记，使细胞悬浮通过分选柱，然后用缓冲液冲洗分选柱，把所有未标记的细胞被冲洗掉来达到分选的目的。对培养 7 天的毛囊细胞、毛囊组织细胞和经 CD34 分选后得到的 CD34+细胞和 CD34-细胞进行扫描电镜观察，发现这些细胞在形态上并无明显差异，但只有 CD34+细胞表面有磁珠颗粒。

荧光显微镜下观察分选得到的细胞，CD34+细胞可见强红色荧光，而 CD34-细胞只有很弱的、几乎不可见的荧光。进行细胞培养后发现，CD34+细胞较 CD34-细胞活性好，

细胞折光性强。免疫组化分别检测 CD34+细胞和 CD34-细胞 β 1-integrin、CD34 和 α 6-integrin 的表达，Image-Pro Plus5.1 软件分析，结果表明 CD34+细胞平均光密度（AOD）值大于 CD34-细胞平均光密度（AOD）值，差异显著，说明 CD34+细胞属于低分化细胞。

另外，杨力教授的研究组还研究了 Pax6 在毛囊干细胞向着角膜上皮细胞诱导分化中量的变化和功能。

实验中，他们用角膜缘组织匀浆液对培养的毛囊 bulge 区细胞行诱导培养，并在培养过程中对诱导培养的毛囊 bulge 区细胞据培养时间进行规律性间断检测核蛋白因子 pax6 表达量的变化，并协同检测毛囊干细胞标记性因子 k15、CD34、 α 6 以及角膜上皮细胞标记物 k12 的表达及其表达变化。

然后，研究组通过流式细胞法测定诱导分化的阳性细胞率。免疫组化及免疫荧光结果显示 k15、CD34、 α 6 由诱导培养前的阳性表达逐渐转为阴性表达，而 k12 的表达则由阴性转为阳性。这意味着由毛囊干细胞向角膜上皮细胞的诱导转分化是成功的。而在诱导培养过程中 pax6 的表达存在量的变化，且其表达逐渐增强。这提示我们 pax6 这种核蛋白因子在转分化过程中起到了一定的作用。（生物通雪花）

[杨力教授简介](#)

[下转 P44 页](#)



《自然》子刊：RNAi 技术新应用

生物通报: 在本期的《自然·生物技术》杂志上, 两篇文章报道了一种控制病虫害的新方法——施用表达靶向害虫重要转录过程的 dsRNA 的转基因植物, 这是 RNA 干扰 (RNAi) 技术在植物学研究及应用上的一大进步。

其中一篇文章由来自中科院上海生命科学研究院植物生理生态研究所的研究人员完成, 他们发明了一种植物介导的 RNA 干扰技术, 可以有效、特异地抑制昆虫基因的表达, 从而抑制害虫的生长。这篇文章被《自然》杂志列为本期突出亮点论文之一, 《自然》杂志评价该论文是“第一次成功报道利用植物自身表达昆虫基因的双链 RNA 来抑制植食性昆虫防御基因的论文”, “通过该技术改良的植物比利用杀虫剂不分青红皂白地将所有昆虫杀死更符合社会发展的需要。”

领导这一研究的是中国科学院院士陈晓亚, 第一作者为他的博士研究生毛颖波。陈晓亚院士主要的研究方向是植物次生代谢调控及表皮细胞发育, 主要工作包括: 青蒿素生物合成关键酶的分子克隆和基因工程; 棉酚代谢研究及抗虫应用; 植物表皮细胞发育调控的分子机制; 小 RNA 对根发育的调控; 棉纤维发育及品质改良的基因工程。

RNA 干扰是一种新发现的基因调控机制, 已被广泛用于研究基因功能。在这篇文章中, 研究人员利用植物表达与昆虫特定基因匹配的双链 RNA 分子, 当昆虫取食这类植物后, 其靶基因的表达被明显降低。该研究组以棉花和棉铃虫为研究对象。因为棉花中有一种主要毒素叫棉酚, 它对大多数生物体有毒性。但棉铃虫对它具有抗性, 它以棉花为食物, 为自己提供养料。

研究组首先分离了棉铃虫参与棉酚解毒的基因—P450, 用双链 RNA 的转基因植物喂食后, 棉铃虫 P450 基因的表达显著降低, 对棉酚的耐受性大大减弱。再用含有棉酚的棉花叶子喂食, 这些棉铃虫生长缓慢, 甚至死亡。

第二篇文章是来自美国孟山都公司 (Monsanto Company) 和 Devgen 公司 (Devgen N.V., Technologiepark) 的研究人员开发了一条创新且精确的途径来防治作物害虫, 该方法以一项荣获诺贝尔奖的发现的创新应用为模型。该技术预计将为农民提供一种保护作物产量的新型种子内选择, 并为支持满足全球日益增长的食品、饲料和燃料需求的农业使命提供了又一个工具。

RNA 干扰广泛存在于植物、动物等真核生物中, 与基因本身及转录并无任何关系, 属于转录后水平的基因沉默机制。Djikeng 与 Fjose 等研究表明, 无脊椎动物和植物中的 RNA 干扰具有抑制侵入宿主体内的病毒和转座子, 减弱和清除其基因毒性的作用。转基因植物中出现的基因沉默作用也是宿主细胞通过 RNA 干扰而实现的自我保护反应。动物基因组对自私 DNA (selfish DNA), 例如病毒和转座元 (transposon) 的入侵和转录异常的抑制也是通过 RNA 干扰实现的, 因为在一般情况下生物体内不会产生双链 RNA。当病毒或转座元等外来遗传物质侵入时, 由于它们自身生活周期的需要, 才会产生双链异常

RNA(aberrant RNA) 或称为无赖 RNA (rogue RNA)。生物体可能是在进化过程中形成了 RNA 干扰等防卫机制来抵御外来遗传物质的寄生。

RNA 干扰是一种新发现的基因调控机制,已被广泛用于研究基因功能。在这篇文章中,研究人员利用植物表达与昆虫特定基因匹配的双链 RNA 分子,当昆虫取食这类植物后,其靶基因的表达被明显降低。该研究组以棉花和棉铃虫为研究对象。因为棉花中有一种主要毒素叫棉酚,它对大多数生物体有毒性。但棉铃虫对它具有抗性,它以棉花为食物,为自己提供养料。

在这篇文章中,研究人员开发出了 RNAi 的创新应用,让人们能够更好地防治那些以作物为食以及影响作物产量的害虫。孟山都执行副总裁兼首席技术官 Robert T. Fraley 博士表

示:“总的说来, RNA 干扰是非常具有前途的改善作物的方法。鉴于其特异性,这种振奋人心的技术能够为我们提供植物科学领域的帮助,而之前这几乎是不可能的。”

Devgen 首席执行官 Thierry Bogaert 表示:“该技术能够有效控制非常特殊的植物害虫。这是作物防治领域的突破。”

这项研究预计将让科学人员能够利用细胞的自然能力调控蛋白质生产能力并将其应用到生产植物害虫防治农药中去。孟山都科学人员正致力于将这种具有发展前途的 RNAi 应用融入该公司未来的玉米害虫防治项目中。

原文检索: Nature Biotechnology Published online: 4 November 2007 | doi:10.1038/nbt1359 Control of coleopteran insect pests through RNA interference
『[Abstract](#)』

上接 P42 页

杨力教授,男,汉族,重庆南岸人,1951 年 3 月出生,大学学历,博士在读,教授。

1977—1980 重庆大学动力系学习

1980—1985 重庆大学生物力学中心助教

1985—1990 重庆大学生物力学实验室主任、讲师

1990—1993 重庆大学生物工程中心主任、副教授

1993—1995 美国加利福尼亚大学圣地亚哥分校高级访问学者

1995— 美国加利福尼亚大学圣地亚哥分校副研究员(其间:1996 至今重庆大学、加利福尼亚大学联合培养博士研究生; 2004.10 被评为重庆大学教授)

2005 年担任重庆大学生物工程学院院长。



GenePharma

MicroRNA相关产品

MicroRNA简介与相关产品

荧光定量PCR相关产品

实时荧光定量PCR简介与相关产品

上海吉玛制药技术有限公司

siRNA 合成专业公司

化学合成及荧光标记的siRNA Oligo Offer!

最高质量: HPLC 纯化>97% 最优价格 800 元/ 对 迅速交货: 8 个工作日
多种选择: 化学修饰及荧光标记等 超值服务: 免费设计, 附送对照。
订货电话: 021-51320195 E-mail: order@genepharma.com



自然-方法学：识别 miRNA 靶标新方法

生物通报道：来自加拿大多伦多大学分子及医学遗传学，加拿大 Health Network 大学（University Health Network），美国耶鲁大学的研究人员公布了一张包含 104 种人类 miRNAs 的 1597 个高可信度的靶标网络，并证明 miRNAs 与 mRNA 的配对表达谱（paired expression profiles）可以高精度的识别分辨出功能性 miRNA 靶向关系。这对于研究生物体中 miRNAs 的作用功能具有重要的意义。这一研究成果公布在《Nature Methods》杂志上。

微小 RNA (microRNA, 简称 miRNA) 是生物体内源长度约为 20—23 个核苷酸的非编码小 RNA，通过与靶 mRNA 的互补配对而在转录后水平上对基因的表达进行负调控，导致 mRNA 的降解或翻译抑制。对于 miRNAs 的研究起始于时序调控小 RNA (stRNAs)，由于 miRNAs 在物种进化中相当保守，在植物、动物和真菌中发现的 miRNAs 只在特定的组织和发育阶段表达，而且这种特异性和时序性，决定了组织和细胞的功能特异性，表明 miRNA 在细胞生长和发育过程的调节过程中起多种作用，因此 miRNA 的研究受到了生物学家的广泛关注。

但是经过了前期的研究，有关哺乳动物体内特异性 miRNAs 靶标的可靠预测依然存在问题，而这对于了解生物体中 miRNAs 的作用及作用途径而言意义重大。

在这篇文章中，研究人员证明利用 miRNAs 与 mRNA 的配对表达谱（paired expression profiles）可以高精度的识别分辨出功能性 miRNA 靶向关系。在 2006 年纽约大学和加州大学伯克利分校的研究人员通过计算机分析预测出了线虫整个基因组范围的 microRNA 靶标图谱，目前已可以从 PicTar 的网站上获得线虫、人类和果蝇的数千个基因组范围的 miRNA 靶标预测结果，这有助于对

不同功能的基因组数据资源进行 miRNA 靶标预测。

之后（今年 7 月）《Cell》的一篇文章也公布了最新的 microRNA 表达图谱，这些都为研究发育和疾病有关的 microRNA 世界提供了重要线索。

多伦多大学的研究人员在这篇研究报告中利用一种贝叶斯数据分析运算法则（Bayesian data analysis algorithm）——GenMiR++，获得了一张包含 104 种人类 miRNAs 的 1597 个高可信度的靶标网络，这些信息来自 88 个组织和细胞类型的 RNA 表达数据，以及序列互补，比较基因组学数据。

并且研究人员利用逆转录定量 PCR 和芯片技术分析了成视网膜细胞瘤（retinoblastoma, Rb）中 let-7b 的降解结果，用来验证其实验预测中有关 let-7b 靶标包含 CDC25A 和 BCL7A 的结果，结果证明了他们的预测。

比较于以序列为基础的预测，这种高品质的 GenMiR++ 预测与基因注解（Gene Ontology annotations）有更多的一致性，而且在预测 mRNA 水平对于 let-7b 水平变化方面也能更精确的预测。（生物通：张迪）

原文检索：Published online: 18 November 2007; |

doi:10.1038/nmeth1130 Using expression profiling data to identify human microRNA targets [Abstract]

微小 RNA (microRNA, 简称 miRNA) 是生物体内源长度约为 20—23 个核苷酸的非编码小 RNA, 通过与靶 mRNA 的互补配对而在转录后水平上对基因的表达进行负调控, 导致 mRNA 的降解或翻译抑制。到目前为止, 已报道有几千种 miRNA 存在于动物、植物、真菌等多细胞真核生物中, 进化上高度保守。在植物和动物中, miRNA 虽然都是通过与其靶基因的相互作用来调节基因表达, 进而调控生物体的生长发育, 但 miRNA 执行这种调控作用的机理却不尽相同。

1993 年, 首次在秀丽隐杆线虫

(*Caenorhabditis elegans*) 中发现 microRNAs, 现已证实, miRNA 广泛存在于真核生物细胞内, 是最大的基因家族之一, 大约占到整个基因组的 1%, 在精细调控基因表达及生物生长发育过程方面发挥着重要作用。任何 miRNAs 的失调都会导致细胞调控事件的剧变。最近研究表明, miRNA 在生物体内的多样化调控途径中扮演着关键性角色, 包括控制发育进程、细胞分化、细胞凋亡、细胞分裂以及器官的发育。miRNA 与其靶分子组成了一个复杂的调控网络, 如某一特定的 miRNA 可以与多个 mRNA 分子结合而发挥调控功能, 反之, 不同的 miRNA 分子也可以结合在同一 mRNA 分子上, 协同调控此 mRNA 分子的表达。

PIERCE® 全部产品

PIERCE® 产品包括以下十三类, 具体内容请来电咨询或登录 www.piercenet.com 查询。

1. 蛋白质/基因表达检测
2. 蛋白质抽提/细胞裂解液
3. 蛋白质亲和纯化
4. 蛋白质样品制备
5. 蛋白质定量/特殊蛋白检测
6. 蛋白质电泳相关产品
7. 蛋白质免疫检测
8. 蛋白质标记
9. 蛋白质结构研究/交联剂
10. 蛋白质功能研究
11. 蛋白质相互作用
12. 抗体生产、纯化和片段化
13. 色谱试剂



本活动礼品由著名的箱包生产企业——广东威豹公司生产 (www.winpard.com)。进口高档面料, 做工精细入微, 加厚贴背衬垫, 专设电脑夹层, 独立 MP3 内袋, 配防雨耳机出口, 坚固耐用, 美观大方。市场零售价 ¥289 元。

赛默飞世尔科技·生命科学部

全国免费技术咨询电话: 800 810 0242

北京

电话: 010-80499033

传真: 010-80499533

上海

电话: 021-64718556

传真: 021-52300936

Thermo
SCIENTIFIC

赛默飞世尔科技旗下品牌

2007年11月28日第十二期

第 46 页, 共 53 页

下一页

返回



蛋白功能研究新趋势： 体外表达产品(上)

生物通在前面介绍了体外表达的概况，那么，如果打算进行体外表达实验，具体有哪些产品可供选择，费用如何呢？我们在这里为您介绍一些主流产品和各自的特点。

Ecoli 体外表达体系

我们在前面的文章中提到，由于体外表达的翻译后加工都存在一定的困难（我们会在后面介绍 Promega 在这方面提供的特殊产品），所大肠杆菌体外表达相对于其他真核体外表达的优势就显现出来而很快成为新热门。比如，大肠杆菌来源成本最低；真核体外表达需要给 mRNA 加上帽子结构，大肠杆菌就不需要；真核体系的转录和翻译是分步进行的，所以体外表达最好分步进行以优化条件，而原核的大肠杆菌体内这两个步骤本来就是偶联在一起同时进行的，所以用于体外表达的操作也更简单高效；另外大肠杆菌系统耐受性更高，可以在反应体系中添加分子伴侣、蛋白酶抑制剂、标记或者非天然的氨基酸等等，满足实验的特殊需要；此外原核体系用于表达真核蛋白时不会有内源干扰的问题等等。

而相比大肠杆菌体内表达，体外表达的优势在于：

1. 需要转化筛选表达等功夫，只需要几个小时得到产物，速度更快操作更简单；
2. 无细胞功能限制，可表达毒性蛋白
3. 借助分子伴侣等外加分子促进产物可溶表达，减少包含体变性复性的麻烦
4. 借助改变反应条件可得到含二硫键正确折叠的蛋白
5. 可共表达多个基因产物

6. 可进行同位素或者非放标记
7. 可插入人工氨基酸研究蛋白质结构
8. 可加入蛋白酶抑制剂抑制蛋白降解
9. 可加入稀有密码子的 tRNA 解决稀有密码子问题

大肠杆菌体外表达一般都选用蛋白酶缺陷株裂解物，原因很明确，减少蛋白酶对产物的降解。可分两大类，一类是用于单个实验，一类是适合仪器的批量反应。

Promega S30 系

Promega 体外表达产品相当丰富，其中大肠杆菌体外表达的 S30 系列就是采用 OmpT/Ion 蛋白酶缺陷株。E. coli T7 S30 Extract System For Circular DNA 是专门为带有 T7 启动子序列的质粒预备的；E.coli S30 Extract System 有适用于环状模版和线性模版 2 种选择，前者只要是普通的大肠杆菌表达质粒就可以直接用，后者则可以是已经合成的 RNA，或者是带有普通大肠杆菌启动子、核糖体结合位点和终止信号的 DNA 片断、PCR 产物。Promega 这一个系列还提供 3 种不同的缺减氨基酸混合物，各缺少一种氨基酸以备不同的标记需要，当然还有对照和检测试剂，所以使用起来相当方便——混合好需要的各组分和模版，37 度保温 1—2 小时插冰上 5 分钟就 OK 啦。剩下的或 PAGE 电泳、Western 检测、或者 TCA 沉淀纯化，该干吗就干吗去吧。

适用于质粒的体外表达体系常用于合成放射或者非放标记的蛋白质,快速鉴定克隆产物,或者加入非天然氨基酸来研究蛋白质结构,还有用于研究转录翻译机制的。而线性产物的试剂盒则更多用于直接鉴定 PCR 产物、诱变突变基因产物或者截断 (truncated) 蛋白质产物以研究功能域。Promega 的产品平均下来一次反应成本 100 块上下,如果是标记蛋白这个方法可谓首选之一,如果你的表达只需要 Western 验证一下产物就可以,这个也是不错的选择。

大肠杆菌体外合成中一个可能遇到的有点讨厌的问题是,真核基因里面可能有多个蛋氨酸(Met),如果碰巧前面的序列正好类似大肠杆菌的核糖体结合位点 RBS,就会由于起始位点错误而得到一些截短的副产物,比如 Promega 这个 Kit 里面的对照 Luciferase,就有 14 个 Met,其中有几个正好可以形成 RBS,翻译的结果就会看到多了几条小带。碰到别理它就是啦,不就是多了点副产品而已。谁没有开小差的时候呢。大肠杆菌体系的另一个注意问题是序列必需要有原核的 SD 序列,就是核糖体结合位点,和相应的转录终止信号。真核体系能识别 Kozak 序列和原核的 SD 序列,软件的术语叫做向下兼容,可是原核的就不认识真核的 Kozak 序列了,没办法,谁叫它低级呢。

前面说过 Ecoli 体外表达系统耐受性高,用来合成标记的蛋白最合适不过。除了放射性标记氨基酸, Promega 还有 2 种非放标记试剂盒可与不同体系的体外表达试剂盒共用,一个是生物素标记的 Lys,可选择显色或者化学发光检测法,灵敏度相当于 35S 标记 Met 显影 6—12 小时,满足一般实验的需要;另外一个荧光标记的 Lys,合成的蛋白可以直接用荧

光凝胶扫描仪检测,不用干胶之类的麻烦事。蛮有意思的。

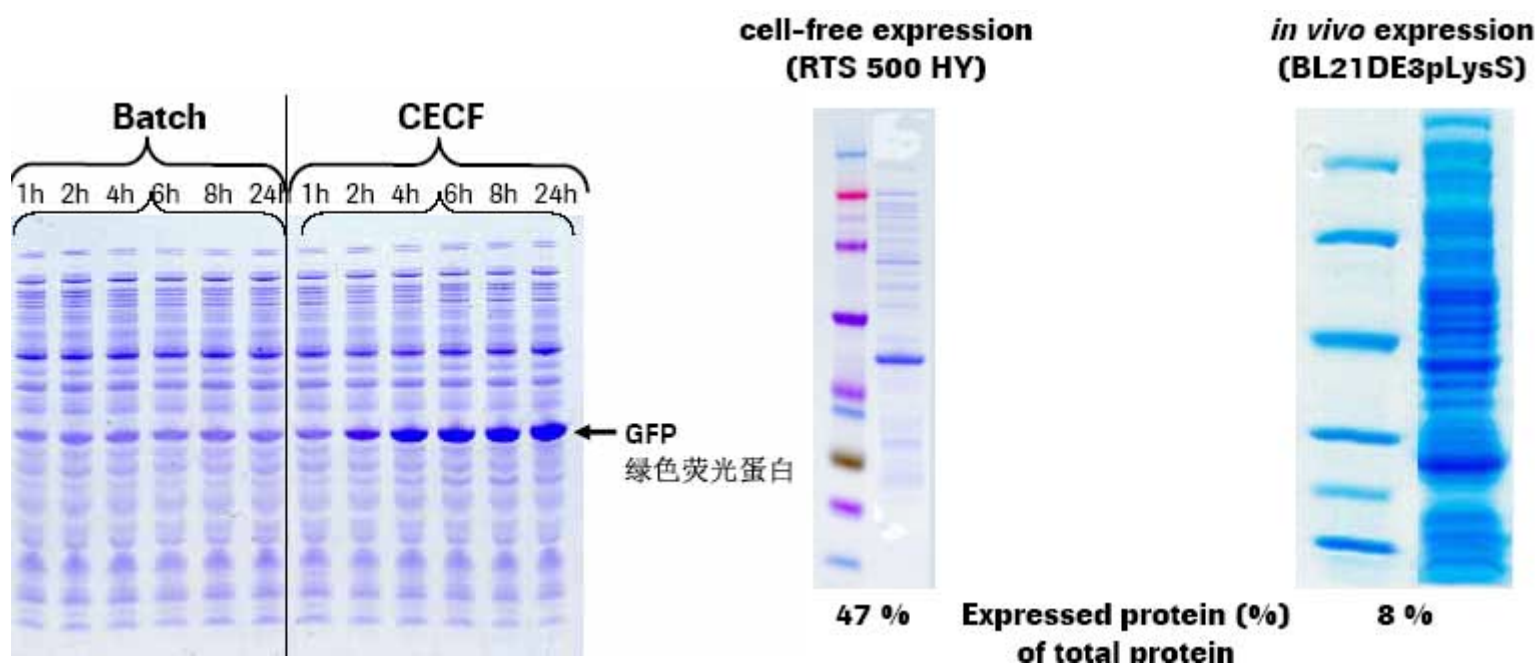
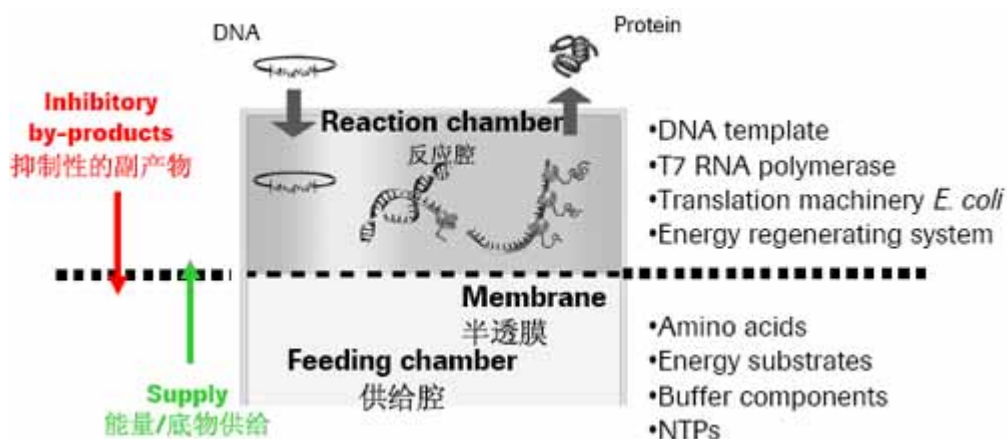
生物通编者一直很关注的另外一个厂家,号称 The RNA Company 的厂家 Ambion 也一直有提供体外转录的产品,这家公司的 RNAi 相关产品也很有特色,最近刚刚被生物产业的大阔佬 ABI 以 2.73 亿美元高价收购其 RNA 业务部分——想想我们熟悉的 Clontech 才卖了 6000 万,还不到 Ambion RNA 业务部分售价的零头! Ambion 在业界的口碑可见一斑。Ambion 这个 E.coli 体系也是适合单个反应的, ActivePro™ In Vitro Translation Kit 特色在于添加了 Activity Enhancer,有助于得到更多的活性产物。这个 Kit 适用于 10—120kD 的带有 T7 启动子、核糖体结合位点和终止信号的蛋白表达,产量大约是一个反应 (50ul) 15—25ug 产物,反应时间只要 1 小时。质粒比片断更稳定一些。国内价格目前要问吉泰,以后可能要问 ABI 了。

Roche RTS E.coli

罗氏上这个体外表达的项目,目标就非常明确,就是瞅准了后基因组时代的高通量快速研究需要。蛋白质作为实现生命所有功能的最终载体,是所有药物的直接或者间接靶标,同时也可能是未来重要的药物来源。身为药业的巨子,自然非常明白,要从成千上万的候选药物或者靶标中筛选合适的蛋白,这么一个一个片断的体内表达不太适合未来研究的需要,而 Rapid Translation System (RTS) 正是反应了 Roche 的期望,也是高通量快速研究所需要的。所以 Roche 的全部体外表达产品都是可以放大规模和批量反应的,有配套的设计软件,还可以配套专利的仪器和专利的连续交换无细胞 (CECF) 系统反应。

RTS 技术基于 3 个原理：偶联反应，这个生物通在前面已经解释过了；连续交换无细胞（CECF）系统反应；高产率（HY）生化体系。要得到更多的产物，要么提高翻译效率——这个还是研究的目标之一，要么延长反应时间。延长反应时间需要解决的问题是副产物抑制和底物消耗。连续交换无细胞（CECF）系统，简单说就是用半透膜分隔的反应腔，反应中的副产物通过半透膜渗透到反应腔外，降低抑制效应，而位于反应腔外的供给腔中，底

物和能量底物通过半透膜不断渗透到反应腔中，从而解决底物持续供应的问题。高产率（HY）生化体系主要指采用新的能量系统和优化的反应体系，使得表达产物量显著提高。通过 CECF 延长反应时间和 HY 系统使得表达量大大增加，最高可以达到 6mg/ml.24hour，或者是 50mg/10ml 反应体系。从下图可以看到，相比体内表达，虽然体外表达产量不占优势，但是背景很少，纯化更容易进行。此外也减少包含体的问题。



我们现在来看看 Roche 的 E.coli 系的几个产品，按照反应规模由小到大可分为 RTS 100, 500 和 9000, 其中 RTS 100 又分为 E.coli HY 和 E.coli Disulfide。前者属于小规模蛋白合成，也就是可用常规单管反应的试剂盒，不需仪器或者特殊耗材辅助。由于用到我们提到的 HY 技术，反应时间可延长到 4 小时，产物可达 20ug/50ul，模版可以是 DNA 质粒或者片断，方便使用。还可以加入 GroE 或者 DnaK 帮助提高可溶性。后者就比较特别，带有二硫键的蛋白不能在还原条件下正确折叠，E.coli Disulfide 就是第一个特别为帮助二硫键正确折叠而设计的试剂盒，产量可达 80ug/50ul 反应。对于有二硫键的蛋白研究这是个好消息，不过可惜，这个试剂盒是专门为高通量反应而设计的，就是说，要配合 Roche 的专门的仪器和耗材使用。这样成本就高多了，叹气.....

RTS 500 E.coli 和 RTS 9000 都是需要专用仪器的大家伙，什么人要花这样的代价进行这个规模的反应？当然是那些时间就是金钱的研发人员——如果当天小规模筛选出来的一把“潜力股”，24 小时后能得到足够进一步研究研究的产物——比如 50mg 进行分析，比起浪费若干星期筛选摸索表达产物和纯化条

件还不一定能得到找到正确的目标，这样的代价就很划算了——早出文章或者早申请专利就是最好的回报。在今后的研究中，由于研究手段不断创新加速，时间的紧迫性会越来越明显。RTS 500 E.coli HY 是 100 的直接放大版，无需另外优化，1ml 反应体积 24 小时可得到 5mg 产物；RTS 9000 E.coli HY 更是 10ml 反应体积，产物可达 50mg。RTS 500 Disulfide 也是同级 100 的放大版，表达量可达 2.5mg/ml。

罗氏公司除了推出体外表达载体、试剂外，还有从小型（配 96 孔板）、中型（配 6 孔板）到大型（10mL）表达的配套仪器出售，可以提供一整套的完善服务，包括针对 E.coli 的序列设计优化软件，也包括为了方便下一步的检测和纯化配有各种标记的线性载体模板提供，包括了：最常用的 6×组氨酸标签、红血球凝聚素（HA）标签和麦芽糖结合蛋白（Maltose Binding Protein, MBP）标签。在环状载体中，除了以上三种标签还提供有谷胱甘肽 S 转移酶（GST）标签供选择。GST 本身是一个在解毒过程中起到重要作用的转移酶，它的天然大小为 26KD。（生物通作者吴为，谢绝转载）

真核体外表达产品一览 待续

▶[体外表达\(三\): 应用前景](#)

▶[体外表达\(二\): 原理和技术要点](#)

▶[体外表达（一）：基因组学迈向蛋白质组学的桥梁](#)

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**



蛋白功能研究新趋势： 体外表达产品(下)

续前 [蛋白功能研究新趋势：体外表达产品\(上\)](#)

兔网织红细胞

兔网织红细胞本来是最早的体外表达体系之一，想想红细胞是没有细胞核的，没有太多 DNA、RNA 的干扰，却有大量合成蛋白的能力，作为单纯的体外翻译系统自然是上佳之选。不过，由于真核细胞中转录和翻译发生在细胞的不同位置，反应条件略有差别，如果以 DNA 片断或者质粒为起始材料的转录翻译偶联反应，可能存在条件优化的问题，所以目前的产品通常有分步和偶联两种选择，蛋白表达量比 E.coli 小。相比其他来源，兔网织红细胞来源有限而且成本高，某种程度上限制了其大规模高通量的应用。虽然真核体外表达系统，兔网织红细胞对 RNA 是否有帽子结构要求不太严格，能识别真核原核的核糖体结合位点，可惜由于没有细胞空间内细胞器间的协作，翻译后加工和糖基化等过程依然不能完成。不过，兔网织红细胞是最有希望取得这方面成果的体系，而且 Promega 在这方面也有一些有益的尝试。

Promega TNT 兔网织红细胞

Promega 的 TNT 兔网织红细胞体外表达系统中，Quick Coupled 翻译转录系统是单管的偶联反应，能简化实验过程和节约时间，可进行蛋氨酸标记，单管反应（50ul）1.5 小时产量可达 300ng，有 T7，T3，SP6 的不同选择，是原来的 Coupled 系列的速度升级版吧。不过如果需要标记其他氨基酸，原版的貌似更方便些，提供 3 种标记方式。Gold TNT

Express96 更是为高通量反应需求而设计的 96 孔反应体系。Promega 还有一些纯粹做体外翻译的兔网织红细胞裂解物，有核酸酶处理与否的区别，还有和麦芽提取物混合的裂解物——如果用兔网织红细胞翻译不出来，一般会建议你试试其他两种，这个产品可以省掉这种麻烦。

不过 Promega 的产品中比较特别的产品是一种 microsomal membranes。生物通前面提到过，即使是真核体外表达系统，由于缺少一定的细胞器结构，蛋白质的翻译后加工问题一直没有得到很好的解决，不过，兔网织红细胞是其中最有一个希望的一个。Promega 这类微粒体膜正是一种有益的尝试。据厂家数据表明，加入微粒体膜的体外翻译体系，可以检测到蛋白质翻译后加工的一些步骤，比如信号肽切除，一些核心糖基化反应。这个现象很有意思，是不是在提示我们，只要体系中有一定的某种细胞器的膜结构，就有可能进行翻译后加工？这些膜结构是否有一定的空间要求？是否要求必须是某种小囊泡结构？以后模拟体外翻译的体系是不是可以设计出带有这种结构的反应容器？在制备裂解物的时候是不是可以避免破坏或者除去这些膜结构？据说这类 microsomal membranes 不适合用于麦芽提取物系统，因为麦芽提取物制备时 EDTA 一步除去了一种信号识别颗粒(signal recognition particle, SRP)，而 SRP 对于蛋白质附着小囊泡膜和起始翻译后加工是必需的。那么，是不是在制备裂解物的过程中去掉了某些元件导致

体外翻译后加工的失败？这些问题存在多年一直悬而未决，不过，既然是体外翻译乃至开展大规模蛋白质组研究的绊脚石，那相信迟早会被解决掉的。这个人会是你吗？谁都有机会哦。要特别说明的是，Promega 这类微粒体在制备过程中小心除去了附着在内质网膜上的核糖体和 mRNA 污染以保证实验的稳定。只可惜一向物美价廉的 Promega，这个产品要 2000 左右，真是想说爱你不容易呀。

除了这几种，生物通前文提到的荧光标记赖氨酸用于体外表达过程中的荧光标记产品，还有生物素标记产品都可以用于兔网织红细胞体外表达系统。方便各种标记反应的进行。

Roche 没有兔网织红细胞体外表达系统，也许是因为这种需要取材于兔血的成本实在太高了吧，不符合 Roche 的高通量大规模的实验需求。除了 Promega, Ambion 和 Novagen 也有偶联的反应体系或者单纯的体外翻译裂解物提供。表达量最高也大约在 200ng-250ng 范围。

麦芽提取物

麦芽提取物是区别于兔网织红细胞的另外一个体外表达真核体系。麦芽来源丰富，比兔血经济，表达量也不高，一直是兔血之外的第二之选。麦芽提取物也常常用来表达哺乳动物的基因，因为植物体系中没有哺乳动物蛋白的干扰。

一直到最近才突然受到 Roche 的重视而获得大力发展——原因在于，如果补充反应体系的损耗和去除副产物抑制，这个体系可延长反应时间，从而达到比较高的产量——1mg/ml.24hours。而生物通上文专门介绍

过的 Roche 的 CECF 技术正好可以解决这个问题，从而使反应时间可以长达一周甚至两周时间！只可惜 Roche 这个体系要求 Roche 专用的仪器配套使用，这样成本就不小啦。麦芽提取物属于真核体外表达系统，不过对 RNA 的帽子结构和核糖体结合位点要求不高，质粒或者 PCR 产物都能应用。一般认为其对真核基因的表达应该会比 E.coli 更好，得到的产物可溶性也更高。Roche 的 Wheat Germ 分为小规模(产量 50ug/50ul)的 RTS100 和大规模的(产量 1mg/ml)的 RTS500 两种。如果你的模版是 RNA，那麦芽体系就是最好的选择了。

Promega 也有 TNT Coupled 的麦芽提取物系统，也是偶联的单管反应，比较省事，有 T7、T3、SP6 之选，还有非常必要的对照提供。同样可以做 3 种氨基酸标记。如果单纯做麦芽提取物的体外泛音，Promega 也有单纯的抽提物提供。

小结

生物通前面介绍了体外表达的优势和市面上体外表达体系的一些特色，其实，体外表达的应用远远不止这么一点。随着高通量药物筛选、蛋白组研究的巨大需求，相信体外表达很快会有更大的发展。不过，体外表达只是研究的手段之一，并不能最终替代细胞表达。比如在细胞水平上研究基因的功能就要求细胞表达。再说，应用到真正大规模生产，细胞表达还有自己的优势，那就是借助细胞自我增殖来放大表达的规模。生物通在这里介绍这种技术并非要强调谁更好，而是希望大家能根据自己的实验需要、时间安排和经费能力选择最适合自己的方法。（完）

[蛋白功能研究新趋势：体外表达产品\(上\)](#) [体外表达\(三\)：应用前景](#)

[体外表达\(二\)：原理和技术要点](#)

[体外表达（一）：基因组学迈向蛋白质组学的桥梁](#)

DNA/RNA合成

Bioneer是全球DNA/RNA合成服务最主要供应商之一，拥有自主专利的高通量技术生产平台。该平台的核心技术是384并行DNA合成仪，这个平台是公司高通量、高质量寡核苷酸合成的保证。

优势

- ※ 世界最先进合成技术、独有专利384高通量合成仪、超大合成规模。Bioneer自行研制的专利384并行高通量DNA合成仪，可实现99%的高合成率，每天可合成寡核苷酸达30,000条。
- ※ 世界上最优质的质量，利用MALDI-TOF检测每一份合成的寡核苷酸。100%保证合成产品质量，并可以免费为客户提供质谱数据。
- ※ 提供96/384板合成产品，为基因芯片和诊断试剂盒生产厂家提供最高质量的引物。
- ※ 修饰方式齐全。可为您提供各种特殊用途的修饰寡核苷酸。
- ※ 大规模合成最佳选择！欧美市场“最经济的选择”！

合成业务

标准寡核苷酸	高通量服务
寡核苷酸的修饰	大规模服务
反义核苷酸合成	基因合成服务
siRNA合成（专利免费siRNA设计）	
基因组文库	
预合成引物	



庆祝Bioneer登陆中国，DNA/RNA合成全线产品八折销售！（截止日期2007年12月31日）

标准寡核苷酸合成 Standard Oligos (Tube) : below 1 plate

合成规模*	价格/碱基	BioRP纯化	HPLC纯化/Oligo	PAGE纯化/Oligo
0.025 μmol	¥2.8	免费	--	--
0.05 μmol	¥4.0	免费	¥350	¥350
0.1 μmol	¥5.5	免费	¥350	¥350
0.2 μmol	¥6.5	免费	¥350	¥350
0.5 μmol	¥10	免费	¥600	¥600
1.0 μmol	¥15	免费	¥850	¥850
10 μmol	¥140	免费	--	¥3400
15 μmol	¥220	免费	--	¥5000

*合成规模是指合成起始的量。合成起始的量和寡核苷酸长度会影响最终的产率。

联系我们

BIONEER北京代表处

地址：北京市丰台南方庄一号院安富大厦2010室

电话：010-87670176/87672770

传真：010-67695398

网址：<http://www.bioneer-bj.com/>

咨询：info@bioneer-bj.com

技术支持：ts@bioneer-bj.com

BIONEER中国地区总代理

北京高端伟业生物技术有限公司

地址：北京市丰台南方庄一号院安富大厦501室

电话：010-67660112/67637029

传真：010-67664973-812

订购邮箱：bio@gr-extracts.com