

家蚕表达人表皮生长因子 gp67 信号肽融合蛋白及生物活性的研究

吕正兵, 张文平, 于 威, 陈 健, 聂作明, 张文伶, 张晓燕, 张耀洲

浙江理工大学生物化学研究所, 杭州 310018

摘 要: 人表皮生长因子(hEGF), 一种由 53 个氨基酸残基组成的单链多肽, 具有广阔的应用前景。本文主要探讨家蚕表达人表皮生长因子 gp67 信号肽融合蛋白的生物活性。采用家蚕杆状病毒表达系统来表达该信号肽融合蛋白。构建了重组质粒 pBacPAKS-hEGF, 将该重组质粒与线性化病毒 Bm-BacPAK6 DNA 共转染家蚕细胞, 筛选获得重组病毒 vBacPAK-SEGF, 用 vBacPAK-SEGF 感染家蚕 BmN 细胞和五龄蚕, Western blot 检测表明在家蚕细胞、五龄幼虫的血淋巴和蛹中均有约 12 kD 的目的蛋白表达。ELISA 检测发现在家蚕细胞中的表达量为 $23 \mu\text{g}/10^6$ 细胞, 五龄幼虫中的表达量可达到 $82 \mu\text{g}/\text{mL}$ 血淋巴。利用小鼠成纤维细胞 Balb/c3T3 分析家蚕表达的 hEGF 信号肽融合蛋白的生物活性, 结果表明表达产物能显著促进 Balb/c3T3 细胞的增值。另外, 研究还发现 hEGF 信号肽融合蛋白可使新生 ICR 小鼠体重增加, 睁眼和萌齿时间提前。本研究为进一步开发利用家蚕表达的 hEGF 提供理论基础。

关键词: 杆状病毒表达系统, 人表皮生长因子, 信号肽融合蛋白的生物活性

Expression of Fusion Protein of hEGF and gp67 Signal Peptide in Larvae of *Bombyx mori*

Zhengbing Lü, Wenping Zhang, Wei Yu, Jian Chen, Zuoming Nie, Wenling Zhang, Xiaoyan Zhang, and Yaozhou Zhang

Institute of Biochemistry, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China

Abstract: *Bombyx mori* baculovirus expression vector system (BEVS) was adopted to express S-hEGF. The reconstructed plasmids of pBacPAKS-hEGF and an engineering modified BmNPV Bm-BacPAK6 DNA were used to co-transfect BmN cells in order to obtain recombinant virus. The recombinant virus (named vBacPAKS-hEGF) was then used to infect BmN cultured cells, the fifth instars larvae and pupa. The aimed 12 kD protein expressed in BmN cultured cells and the fifth instars larvae was identified with Western blot. ELISA results showed that the amount of expression protein reached $23 \mu\text{g}/10^6$ in BmN cells and $82 \mu\text{g}/\text{mL}$ in larvae. The biological activity was determined by epidermal growth factor dependent Balb/c3T3 cell line. Both cellular extracts and haemolymph of silkworm larvae infected with the recombinant virus accelerated proliferation of Balb/c3T3 cells. In addition, animal experiment

Received: April 2, 2007; **Accepted:** June 9, 2007

Supported by: the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (Nos. Y20449, Y305171 and Y305275), the National High Technology R&D Program of China (863) (Nos. 2004AA206010, 2004AA2Z3940 and 2005AA206120), the National Basic Research Program of China (No. 2005CB121006) and the Key Program of Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No. Z204267).

Corresponding author: Yaozhou Zhang. Tel: +86-571-86843198; Fax: +86-571-86843198; E-mail: yaozhou@zist.edu.cn.

浙江省自然科学基金项目(Nos.Y20449, Y305171 and Y305275); 国家高技术研究发展计划(863)项目(Nos.2004AA206010, 2004AA2Z3940 and 2005AA206120); 国家重点基础研究发展规划项目(973)项目(No.2005CB121006)和浙江省自然科学基金重点项目(No.Z204267)资助。

results revealed that S-hEGF fusion protein promoted newborn ICR mice weight increasing, incisor eruption and eyelid opening.

Keywords: baculovirus expression vector system (BEVS), human epidermal growth factor (hEGF), activity of fusion protein of hEGF and gp67 signal peptide

人表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)具有多种生物学特性,在刺激皮肤组织和角膜的增殖和分化中起着极其重要的作用^[1]。体内条件下动物卵泡液中也含有一定量的表皮生长因子,研究证明 EGF 对卵母细胞成熟有着积极的促进作用,同时可提高后期的受精率、胚胎发育率以及减少程序化死亡的细胞数。由于其在基础研究和临床医学中应用前景广阔,人们正试图应用新方法进行大规模生产 hEGF,包括直接从动物体液中分离纯化以及化学合成^[2],但纯度和产率都不能满足产业化的需求。1985 年 Oka 等首次将 hEGF 基因在大肠杆菌中表达成功,其表达量达每升培养液 30 mg,体外试验表明重组产物具有明显的生物学活性^[3]。以前研究表明信号肽能够显著增加 hEGF 的表达水平,并能引导目的蛋白穿过大肠杆菌质膜和酵母内质网膜^[3-4]。本研究利用家蚕杆状病毒表达系统分别在家蚕细胞和幼虫中表达 hEGF 信号肽融合蛋白,并研究表达产物的生物学活性。

1 材料和方法

1.1 材料

E. coli TG1 菌株、BmN 细胞、pBacPAK8 质粒以及线性化的家蚕杆状病毒为本实验室保存;小鼠成纤维细胞株 Balb/c 3T3 购于中科院上海生化细胞所细胞保藏中心;培养基 TC-100 和胎牛血清购于 Gibco-BRL 公司.pBS-EGF 和 pET-22b 质粒由中科院上海生化细胞所吴祥甫教授惠赠;各种限制性核酸内切酶、T4 DNA 连接酶、蛋白酶 K、X-gal、地高辛标记试剂盒 Taq 酶及相关试剂等购于 Roche 公司,标准的重组 hEGF 从 Promega 公司购得;兔抗人 EGF 和羊抗兔 IgG (HRP)抗体购于上海生工生物工程公司;5 龄蚕品种为青松×皓月;SD 大鼠(180 g±20 g)雌性各半,合格证号:SCXK(苏)2002-0018。

1.2 方法

1.2.1 hEGF 基因的克隆

根据 hEGF 基因序列设计以下引物直接以重组

的 pET22-EGF 质粒为模板扩增 hEGF 基因,引物序列:

上游引物为: 5' GCTCTAGAAACTCCGACTCTGAA-TGC (*Xba* I) 3'

下游引物为: 5' GGGGAATTCTTATAGCTCATCTTTCT-CA (*Eco*R I)3'

划线部分为相应的酶切位点序列。PCR 反应条件为: 94 预变性 3 min, 94 变性 45s, 58 退火 1 min, 72 延伸 1min, 共 30 个循环,再 72 延伸 10 min。

1.2.2 重组转移载体 pBacPAK-SEGF 的构建

将扩增的 PCR 产物用 *Xba* I 和 *Eco*R I 双酶切,同时将 pBacPAK8 用 *Bam*H I 和 *Eco*R I 双酶切,酶切产物经低熔点琼脂糖凝胶电泳后,分别切胶回收,双酶切后的 PCR 产物同时插入同样双酶切后的含信号肽的载体 pETS 中,使 hEGF 与信号肽融合,并能编码 12 kD 融合蛋白,之后,将此重组基因插入到转移载体 pBacPAK8 的 *Bam*H I 和 *Eco*R I 位点,所得重组质粒命名为 pBacPAK-SEGF。

1.2.3 共转染和重组杆状病毒的筛选

根据我们以前报道的方法进行共转染家蚕细胞^[5],将纯化的重组转移载体 pBacPAK-SEGF 与线性化的 Bm-BacPAK6 的 DNA 共转染家蚕 BmN 细胞。经过 3 轮空斑筛选获得纯重组病毒株,称之为 Bm-SEGF,利用 PCR 和 Southern blot 鉴定重组病毒。重组病毒稀释后用 Reed-Muench 法:半数效量的累积法计算重组病毒滴度^[4]。

1.2.4 SEGF 在 BmN 细胞、幼虫中表达

以中等感染复数(MOI=10)的重组病毒感染 BmN 细胞,在 27 孵育,并在感染后的不同时间收集细胞。离心后收集细胞,加入 PBS 重悬细胞,用反复冻融和超声破碎方法裂解 BmN 细胞。五龄家蚕幼虫接种重组病毒,以感染野生型病毒 Bm-BacPAK6 的幼虫作为对照。接种后 1~6 d 收集被感染幼虫的血淋巴,贮存于-20 备用。

1.2.5 SEGF 的 ELISA 定量和免疫斑点检测

在感染后 1~6 d 收集 BmN 细胞和上清,用 0.2 mL 的 PBS 重悬这些细胞,然后用反复冻融和超声

破碎裂解 BmN 细胞, 离心后上清做 ELISA 试验。

1.2.6 Western blot 分析

为了检测重组 SEGF 的表达, 收集五龄幼虫感染 3 d 后的血淋巴, 裂解并稀释 10 倍, 随后, 用 SDS-PAGE 电泳, 考马斯亮蓝染色分析此血淋巴样品(15%分离胶, 5%的浓缩胶), 并用正常的血淋巴和 Bm-BacPAK6 感染幼虫的血淋巴作阴性对照。电泳后, 转移到 Hybond-P 膜(Amersham Biosciences)上, 然后用一抗(兔抗人 EGF)和二抗(偶联辣根过氧化物酶的羊抗兔 SABC)检测目的蛋白。

1.2.7 家蚕培养细胞表达的 SEGF 对 Balb/c3T3 细胞和家蚕幼虫的影响

分别用重组病毒和野生型病毒感染 BmN 细胞 (5×10^6 cells/flask)。收集感染 72 h 后的细胞裂解上清, 用正常的家蚕细胞和空白作对照。Balb/c3T3 细胞以 $5 \times 10^3 \sim 7 \times 10^3$ 细胞/孔接种于 96 孔板中, 用细胞裂解上清作系列稀释, 37 °C 孵育 48 h。用天然的 hEGF 作标准品, 初始浓度为 20 ng/mL。用 MTT 法检测, 来评价 Balb/c3T3 细胞的生存活力。

1.2.8 动物试验

清洁级雌性 ICR 小鼠, 鼠龄 15 周, 体重 32~35 g, 均为首次产仔, 雌鼠带仔 8~11 只。ICR 新生乳鼠的平均体重为 0.83 g。母乳饲养, ICR 新生小鼠共分 3 组, 每组 30 只。A 组: 用感染 4 d 后含有 SEGF 表达产物的蚕血淋巴饲养(1 mg/kg), B 组: 用正常的蚕血淋巴饲养(1 mg/kg), C 组: 生理盐水。分别统计在出生日和 5、8、12、15 和 18 d 龄称量各组小鼠的体重; 每日观察各组小鼠萌牙情况, 记录初次发现和全部萌出牙齿的日龄; 每日观察各组小鼠睁眼与否, 并记录睁眼的日龄, 以观察 SEGF 融合蛋白对新生小鼠体重、萌齿和睁眼的影响。

2 结果

2.1 重组病毒的鉴定

通过 PCR 鉴定重组质粒载体 pBacPAK-SEGF, 限制内切酶(*Bam*HI, *Xba*I and *Eco*R I)消化, DNA 测序证明 hEGF 基因已成功插入到转移载体 pBacPAK8 中。

以筛选的重组病毒基因组 DNA 为模板进行 PCR 扩增目的基因, 结果得到了与预期大小一致的 320 bp 的特异片段, 并将 PCR 产物转膜, 以全长的 hEGF 基因的 PCR 产物为探针, 以重组质粒 pBacPAK-hEGF 为模板的 PCR 产物为阳性对照, 进

行 Southern blot 分析, 结果检测到重组病毒中含有与目的基因大小一致的片段, 这些结果表明我们成功地构建并筛选到重组病毒(见图 1)。

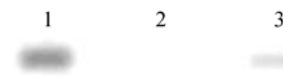


图1 重组病毒Southern blot 鉴定

Fig. 1 Identification of recombinant virus by Southern blot
1: recombinant pBacPAK-hEGF; 2: wild virus;
3: recombinant virus

这些结果表明 SEGF 基因已插入到处于多角体蛋白启动子控制下的杆状病毒基因组中。

按照 Reed-Muench 公式, 重组病毒的稀释滴度约 6.64×10^9 pfu。用该重组病毒感染后, BmN 细胞和家蚕幼虫都同样出现了典型的 BmNPV 感染症状。

2.2 ELISA 检测家蚕 BmN 细胞与家蚕幼虫中 SEGF 融合蛋白的表达

为了确定家蚕 BmN 细胞中 SEGF 的表达量, 分别收集感染后 48、72、96、120 h 的上清和家蚕 BmN 细胞, 然后用 ELISA 检测。用 0.2 mL PBS 重悬细胞, 然后用反复冻融和超声破碎裂解细胞。在 96 孔微量滴定板中用 PBS 连续稀释上清和裂解细胞的上清, 用野生型病毒感染的细胞和正常细胞的裂解上清作阴性对照。

ELISA 结果显示 SEGF 在细胞抽提物中, 但不分泌到培养物中。在感染 3 d 后的裂解细胞中可检测的合蛋白最高水平大约是 $23 \mu\text{g}/1 \times 10^6$ cells。在感染后期, 感染细胞开始裂解, 重组融合蛋白释放到培养基中。在感染 4 d 后, 培养基中可检测的重组融合蛋白浓度达到最大值。结果表明在天然的细胞裂解上清中也存在有 SEGF 类似蛋白。

五龄家蚕幼虫接种重组病毒后每天收集被感染幼虫的血淋巴, 以空白和注射野生型病毒的幼虫作为阴性对照。在感染的家蚕幼虫中, 重组融合蛋白在感染 5 d 后高效地释放到幼虫血淋巴中。感染后第 5 d, 血淋巴中的融合蛋白最大量达到 82 mg/L。有趣的是, 正常裂解细胞上清或正常家蚕血淋巴中都出现弱阳性反应。这意味着家蚕本身含有 EGF 类似物, 并导致正常血淋巴与 EGF 抗体反应。

2.3 家蚕幼虫和蛹中 SEGF 融合蛋白表达的 Western blotting

SDS-PAGE 和 Western blot 结果都显示出家蚕幼虫和蛹中表达的 SEGF 为 12 kD 特异条带, 大小与预期一致(见图 2)。

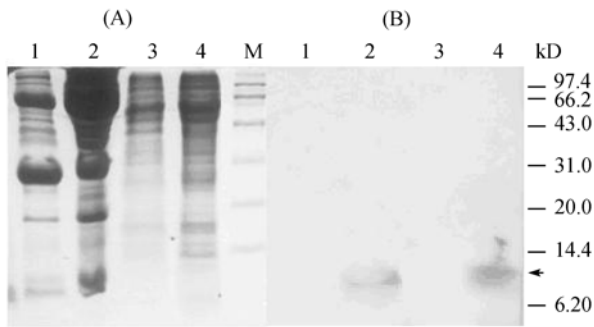


图2 hEGF蛋白的SDS-PAGE和Western blot分析
Fig. 2 SDS-PAGE and Western blot of SEGf fusion protein (A: SDS-PAGE; B: Western blot)

1: Haemlymph of larvae infected with Bm-BacPAK6 virus; 2: haemlymph of larvae infected with recombinant Bm-SEGf virus; 3: *Bombyx mori* cell infected with Bm-BacPAK6 virus; 4: *Bombyx mori* pupa infected with recombinant Bm-SEGf virus; M: protein marker

2.4 家蚕细胞和家蚕幼虫表达的重组 SEGf 融合蛋白对 Balb/c3T3 细胞的增殖效应

细胞抽提物和用重组病毒感染的家蚕幼虫血淋巴都能促进 Balb/c3T3(Fig. 3A, 3B)细胞的增殖。与 ELISA 结果相似,用正常家蚕幼虫的血淋巴作对照,结果也显示对 Balb/c3T3 细胞增殖有弱上调作用。预示在正常家蚕幼虫的血淋巴中可能有一些类似 EGF 的生长因子,它能增加 Balb/c3T3 细胞的活力。

2.5 口服给予重组 SEGf 融合蛋白对新生小鼠生长、萌齿和睁眼的影响

为了确证合成的家蚕表达的重组 SEGf 是否能有效的促进新生小鼠生长、萌齿和睁眼,用感染重组病毒的血淋巴处理新生小鼠。以野生型病毒感染的血淋巴和生理盐水作阴性对照,与生理盐水组相比,重组病毒和野生型病毒组的生长速度快,与生理盐水组相比,在第 10 天和第 15 天的 rSEGf 组新生小鼠的平均重量要高很多($P < 0.001$) (表 1)。这提示家蚕表达的 SEGf 融合蛋白能有效地促进新生小鼠的生长。虽然所有的组中(第 7 天)萌齿时间是一样的,但是,每一个组中的萌齿速率不同,最高的是 rSEGf 组。与生理盐水组相比较,重组病毒组(8.0 ± 1.0)总萌齿时间快($P < 0.01$),而且,野生型病毒组和正常的血淋巴组比生理盐水组要快($P < 0.05$) (表 2),重组病毒组的睁眼时间比生理盐水组快($P < 0.001$),野生型病毒组和正常的血淋巴组比生理盐水组要快($P < 0.05$) (表 3)。所有这些现象说明家蚕 SEGf 融合蛋白能有效地促进新生小鼠的生长、萌齿和睁眼。这些结果也表明在正常的家蚕幼虫血淋巴中可能存在一些类似 EGF 的生长因子,能促进新生小鼠的生长、萌齿和睁眼。

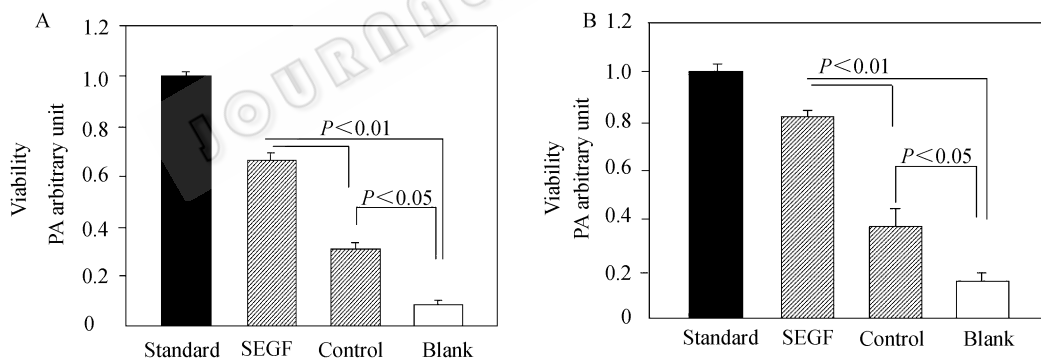


图3 家蚕细胞和家蚕幼虫表达的重组hEGF对Balb/c3T3细胞的增殖效应

Fig. 3 The effect of recombinant SEGf on Survival rate of Balb/c3T3 cells

A: recombinant SEGf expressed in BmN cells; B: recombinant SEGf expressed in larvae of silkworm

表 1 不同处理对新生小鼠体重的影响

Table 1 Effect of different treatment on body weight of newborn mice

Day	Haemolymph with rSEGf	Normal haemolymph	Haemolymph infected by wild virus	Saline
5	1.90 ± 0.15**	1.56 ± 0.23*	1.55 ± 0.26*	1.31 ± 0.15
10	3.30 ± 0.48***	2.90 ± 0.15*	2.91 ± 0.18*	2.58 ± 0.28
15	4.16 ± 0.53***	3.54 ± 0.49**	3.52 ± 0.56**	3.16 ± 0.13

* $P < 0.05$ vs saline; ** $P < 0.01$ vs saline; *** $P < 0.001$ vs saline; body weight of newborn mice: g

表 2 rSEGF 对新生小鼠萌齿日龄的影响
Table 2 Effect of rSEGF on the tooth-budding date of newborn mice

Group	The tooth-budding days	The latest days of superior and inferior teeth growth	The average days of all teeth growth
rSEGF	7(45%)	10	8.0±1.0*** [*]
Normal haemolymph	7(20%)	10	8.8±1.5
Saline	7(6.7%)	11	9.7±1.9

*** $P < 0.001$ vs saline; * $P < 0.1$ vs Bm-BacPAK6 virus

表 3 rSEGF 对新生小鼠睁眼日龄的影响
Table 3 Effect of rSEGF on the eye-opening date of newborn mice

Group	Day				The average days of eyes opening
	d13	d14	d15	d16	
rSEGF	10%	40%	50%	/	14.4±0.58*** [*]
Normal haemolymph	10%	30%	60%	/	14.8±0.63
Saline	/	/	30%	70%	15.7±0.48

*** $P < 0.001$ vs saline; * $P < 0.1$ vs Bm-BacPAK6 virus

3 讨论

家蚕杆状病毒表达体系是一种快速而便捷获得不同外源基因表达产物的真核表达系统。相对哺乳动物细胞而言, 家蚕细胞具有一定的优势, 例如易培养, 对渗透和副产物浓度的高耐受性, 表达水平高等^[6]。然而, 通过 BEVS 表达不同的外源基因, 表达水平有明显的不同。每个幼虫产生的生长激素量的为 1 mg 左右^[7], 乙肝病毒表面抗原(HbsAg)表达水平高达(400~600 μg/mL)^[8]。

hEGF 已分别在大肠杆菌、短芽孢杆菌和酵母中被成功表达^[3,4,11]。本研究表明 BEVS 能用于表达 SEGF, 这可用作对肠疾病的潜在口服给药和烧伤、角膜的外用给药。与其他的真核表达系统相比, 在家蚕生物反应器中异源蛋白的表达是在多角体蛋白的强启动子控制下, 使得细胞总蛋白表达水平升高 20%^[12]。

在家蚕中生产重组蛋白的费用比通过 *E. coli* 发酵所生产同样量的蛋白费用要低很多。再者, 本研究也发现家蚕中存在一些类似 EGF 的天然物质, 该 EGF 类似物也能促进新生小鼠的生长、萌齿和睁眼, 及增加 Balb/c3T3 细胞的活力。目前还未有有关家蚕类 EGF 功能因子的文献报道, 但在 GeneBank 中检索出一些昆虫类 EGF 结构域因子的基因片段^[13-21]。我国为世界蚕桑大国, 资源丰富, 充分利用资源优势, 对此进行进一步探索, 对深入开发蚕桑资源, 研制新一代抗衰老药物及相关产品都具有积极的意义。

REFERENCES

- [1] Kurten RC, Chowdhury P, Sanders RCJ, *et al.* Coordinating epidermal growth factor-induced motility promotes efficient wound closure. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2005, **288**(1): 109-121.
- [2] Heath WF, Merrifield RB. A synthetic approach to structure-function relationships in the murine epidermal growth factor molecule. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, **83**(17): 6367-6371.
- [3] Oka T, Sakamoto S, Miyoshi K, *et al.* Synthesis and secretion of human epidermal growth factor by *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1985, **82**(21): 7212-7216.
- [4] Brake AJ, Merryweather JP, Coit DG, *et al.* Alpha-factor-directed synthesis and secretion of mature foreign proteins in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, **81**(15): 4642-4646.
- [5] Gong ZH, Jin HQ, Jin YF, Zhang YZ. Expression of cholera toxin B subunit and assembly as functional oligomers in silkworm. *J Biochem. Mol. Biol*, 2005, **38**(6): 717-724.
- [6] Ikonomou L, Schneider YJ, Agathos SN. Insect cell culture for industrial production of recombinant proteins. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2003, **62**(1): 1-20.
- [7] Ho WK, Meng ZQ, Lin HR, *et al.* Expression of grass carp growth hormone by baculovirus in silkworm larvae. *Biochim Biophys Acta*, 1998, **1381**(3): 331-339.
- [8] Higashihashi N, Arai Y, Enjo T, *et al.* High-level expression and characterization of hepatitis B virus surface antigen in silkworm using a baculovirus vector. *J Virol Methods*, 1991, **35**(2): 159-167.
- [9] Murphy CI, McIntire JR, Davis DR, *et al.* Enhanced expression, secretion, and large-scale purification of recombinant HIV-1 gp120 in insect cell using the baculovirus egt and p67 signal peptides. *Protein Expr Purif*, 1993, **4**(5): 349-357.
- [10] Grabherr R, Ernst W, Oker-Blom C, *et al.* Developments

- in the use of baculoviruses for the surface display of complex eukaryotic proteins. *Trends Biotechnol*, 2001, **19**(6): 231–236.
- [11] Yamagata H, Nakahama K, Suzuki Y, Kakinuma A, Tsukagoshi N, Uda S. Use of *Bacillus brevis* for efficient synthesis and secretion of human epidermal growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, **86**(10): 3589–3593.
- [12] Massotte D. G protein-coupled receptor overexpression with the baculovirus-insect cell system: a tool for structural and functional studies. *Biochim Biophys Acta*, 2003, **1610**(1): 77–89.
- [13] Wharton KA, Johansen KM, Xu T, *et al.* Nucleotide sequence from the neurogenic locus notch implies a gene product that shares homology with proteins containing EGF-like repeats. *Cell*, 1985, **43**(3 Pt 2): 567–581.
- [14] Rothberg JM, Jacobs JR, Goodman CS, *et al.* slit: an extracellular protein necessary for development of midline glia and commissural axon pathways contains both EGF and LRR domains. *Genes Dev*, 1990, **4**(12A): 2169–2187.
- [15] Rutledge BJ, Zhang K, Bier E, *et al.* The *Drosophila* spitz gene encodes a putative EGF-like growth factor involved in dorsal-ventral axis formation and neurogenesis. *Genes Dev*, 1992, **6**(8): 1503–1517.
- [16] Grabherr R, Ernst W, Oker-Blom C, *et al.* Developments in the use of baculoviruses for the surface display of complex eukaryotic proteins. *Trends Biotechnol*, 2001, **19**(6): 231–236.
- [17] Bierkamp C, Campos-Ortega JA. A zebrafish homologue of the *Drosophila* neurogenic gene Notch and its pattern of transcription during early embryogenesis. *Mech Dev*, 1993, **43**(2–3): 87–100.
- [18] Bettenhausen B, Hrabe de Angelis M, Simon D, *et al.* Transient and restricted expression during mouse embryogenesis of Dll1, a murine gene closely related to *Drosophila* Delta. *Development*, 1995, **121**(8): 2407–2418.
- [19] Kuriyama S, Miyatani S, Kinoshita T. Xerl: a novel secretory protein expressed in eye and brain of *Xenopus* embryo. *Mech Dev*, 2000, **93**(1–2): 233–237.
- [20] Freeman M. Complexity of EGF receptor signalling revealed in *Drosophila*. *Curr Opin Genet Dev*, 1998, **8**(4): 407–411.
- [21] Smith J, Cook E, Fotheringham, *et al.* Chemical synthesis and cloning of a gene for human beta-urogastrone. *Nucleic Acids Res*, 1982, **10**(15): 4467–4482.
- [22] Song X, Chen X, Yamaguchi H, *et al.* Initiation of cofilin activity in response to EGF is uncoupled from cofilin phosphorylation and dephosphorylation in carcinoma cells. *J Cell Sci*, 2006, **119**: 2871–2881.

科学出版社科学出版中心生命科学分社 2007 年精品书回顾

功能基因组学 (生命科学专论)

徐子勤 编著

978-7-03-019052-9/Q.1860 定价: 88.00 2007 年 6 月出版

本书全面总结了功能基因组学的基本原理以及国内外在基因功能研究领域的主流技术和最新发展趋势, 共 13 章, 分为四个部分。第一部分 (1~3) 概述核酸操作的主要工具和方法。第二部分 (4~6) 系统介绍了基因的克隆、定位和表达体系。第三部分 (7~9) 归纳了功能基因组学研究的主要方法, 涉及动物模型、蛋白质相互作用、定点突变、基因表达谱以及 RNA 干扰等多个方面。第四部分 (10~13) 具体分析突变体在植物基因功能研究中的重要作用。

本书可供高等学校和科研机构相关教师 and 研究人员使用, 也可以作为生物科学和生物技术专业高年级本科生和研究生教材。



《英汉生物化学及分子生物学词典 (第二版)》

谭景莹 李玉瑞 主编

7-03-017166-7 定价: 75.00 2007 年 1 月出版

本词典是在《英汉生物化学及分子生物学词典》、《英汉生物化学及分子生物学词典 (续编)》的基础上进行了合订、修订、再版的。又增加了约 5500 条新词。大部分带有释义。涉及遗传学、免疫学、微生物学、细胞生物学、神经科学、发育生物学等。反映了学科最新发展动态、内容全面、丰富。

本书适合从事生物化学及分子生物学和相关学科的科研、教学人员和学生使用。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书 (免邮费)

邮购地址: 北京东黄城根北街 16 号 科学出版社 科学出版中心 生命科学分社 邮编: 100717

联系人: 阮芯 联系电话: 010-64034622 (带传真)

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>, 欢迎致电索要书目