

体外实时动态监测水动力注射分泌型荧光素酶基因的表达

田文洪^{1*}, 王刚^{1*}, 罗顺涛^{1,2}, 董小岩^{1,3}, 付昕阳¹, 谭文杰¹, 吴小兵¹

1 中国疾病预防控制中心 病毒病预防控制所 病毒基因工程国家重点实验室, 北京 100052

2 四川大学 华西医学院 华西医院 生物治疗国家重点实验室, 成都 610064

3 北京五加和分子医学研究所有限责任公司, 北京 100176

摘要: 为了建立体外实时动态监测转基因的体内表达, 本研究选择分泌型的荧光素酶基因 *Gluc* 作为报告基因, 对其内外表达特性和检测方法进行了研究。首先构建了 *Gluc* 表达质粒 pAAV2neo-*Gluc*。将 pAAV2neo-*Gluc* 转染体外培养的 Huh7、HepG2 细胞后, 细胞培养上清和细胞裂解液中分别检测到 *Gluc* 的活性, 而上清比细胞中的含量高约 100 倍。表明表达的 *Gluc* 以分泌形式为主。用水动力法经小鼠尾静脉注射 pAAV2neo-*Gluc* 质粒, 活体成像表明 *Gluc* 在小鼠体内呈全身分布, 而注射了萤火虫荧光素酶质粒 pAAV2neo-*Fluc* 的对照小鼠则主要在肝脏显像。将剂量分别为 0.1、1、10、50 μg 每只的 pAAV2neo-*Gluc* DNA 用水动力法尾静脉注射小鼠, 不同时间点连续尾静脉采血测定其中的 *Gluc* 酶活性, 观察其 *Gluc* 体内表达和分泌的动态变化。结果显示, 各剂量组的 *Gluc* 表达变化规律高度一致: 注射后 2 h 即可检测到 *Gluc* 表达, 10 h 后达到高峰, 之后逐渐下降; *Gluc* 的表达水平与注射质粒 DNA 的量呈正相关; 为了进一步观察 *Gluc* 检测的灵敏性, 本研究又比较了注射更低的质粒剂量(包括 0.001、0.01 和 0.1 μg 每只)时 *Gluc* 体内表达情况。结果发现注射剂量低至 0.001 μg 每只小鼠都能在血中检测到 *Gluc* 表达, 这一结果提示了 *Gluc* 检测的高度灵敏性。本研究首次报道了以 *Gluc* 为报告基因体外实时动态监测水动力注射基因的表达规律, 为动态分析水动力注射基因的体内表达调控及功能研究提供了新的有效手段。

关键词: 水动力注射, 基因表达, *Gluc*, 监测, *ex vivo*

Real time *ex vivo* detection and dynamic monitoring of *in vivo* expression of secreted luciferase gene injected by hydrodynamic method

Wenhong Tian^{1*}, Gang Wang^{1*}, Shuntao Luo^{1,2}, Xiaoyan Dong^{1,3}, Xinyang Fu¹, Wenjie Tan¹, and Xiaobing Wu¹

1 Institute for Viral Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, National Laboratory of Molecular Virology and Genetic Engineering, Beijing 100052, China

2 State Key Laboratory of Biotherapy and Cancer Center, West China Hospital, West China Medical School, Sichuan University, Chengdu 610064, China

Received: June 3, 2009; **Accepted:** July 20, 2009

Supported by: State Basic Research and Development Program of China (973 Program)(No. 2004CB518806).

* These authors contributed equally to this study.

Corresponding author: Xiaobing Wu. Tel: +86-10-63523187; Fax: +86-10-63532053; E-mail: wuxb0168@vip.sina.com

国家重点基础研究发展计划(973 计划)(No. 2004CB518806)资助。

3 Beijing Fiveplus Molecular Medicine Institute, Beijing 100176, China

Abstract: We chose *Gaussia* luciferase (*Gluc*), a secreted luciferase gene as reporter to real-time detect and dynamically monitor hydrodynamic injection gene expression. First, we constructed an expression vector pAAV2neo-*Gluc*. Then Huh7 and HepG2 cells were transfected with pAAV2neo-*Gluc* and the activity of *Gluc* in the supernatant and cell lysates were assayed. Results showed that the *Gluc* activity in the supernatant was about 100 higher than that in cell lysates, indicating the expressed *Gluc* existing mainly as a secreted form as reported. Live bioluminescence imaging of mice hydrodynamic injected pAAV2neo-*Gluc* showed whole body distribution, while the pAAV2neo-*Fluc* primarily located in the liver. Then we injected different doses of pAAV2neo-*Gluc* into mice by tail-vein hydrodynamic injection, took minor amount of blood from mice tails at different time points and measured the luciferase activity to investigate dynamic changes of *Gluc* expression and secretion *in vivo*. The results suggested that the time courses of *Gluc* expression were highly consistent among each dose groups. The luciferase activity in blood could be detected as early as 2 h after injection, reached the peak at about 10 h and gradually decreased from then on. The expression level of *Gluc* was positively correlated with the dose of injected plasmid DNA. To further detect the assay sensitivity of the *ex vivo* *Gluc* measurement method, we investigated three additional groups of mice injected with lower doses of 0.001 μg , 0.01 μg and 0.1 μg pAAV2neo-*Gluc* respectively. Results revealed that activity of *Gluc* in blood could be detected even at dose as low as 0.001 μg DNA, suggesting the assay sensitivity was extremely high. In conclusion, a real-time *ex vivo* detection method of dynamically monitoring of gene expression *in vivo* by hydrodynamic injection can be a valuable means for the study of gene expression regulation *in vivo*.

Keywords: hydrodynamic injection, gene expression, *Gluc*, monitoring, *ex vivo*

水动力法尾静脉注射外源基因出现于 1999 年, 它通过小鼠尾静脉注射大体积的含外源基因表达质粒的生理盐水, 实现外源基因的高效表达。由于该方法具有快速、简单、高效、安全等优点, 近年来常用于外源基因的体内表达与功能研究、基因治疗研究^[1]和动物模型构建^[2]。建立一种离体实时动态监测外源基因表达的方法对研究水动力注射基因的体内表达调控具有重要意义。以往大多选择萤火虫荧光素酶基因作为报告基因, 研究水动力注射外源基因的体内表达动力学。由于萤火虫荧光素酶是不能分泌的, 因此需要在不同时间点处死动物获取肝脏组织来检测荧光素酶含量^[1], 从而需要使用大量的实验动物, 并且不能对同一只实验动物进行连续检测。*Gluc*(*Gaussia* luciferase)作为一种新型荧光素酶, 具有分子量小、易分泌、检测灵敏度高、半衰期短等优点。在哺乳动物细胞中, *Gluc* 比萤火虫和海蜃荧光素酶产生的荧光强度高 100 倍以上, 而且由于 *Gluc* 天然的分泌信号肽, 细胞中 80% 以上的 *Gluc* 均能分泌至细胞外^[3]。这使通过检测血液 *Gluc* 荧光素酶活性指示体内 *Gluc* 表达情况成为可能。Thomas Wurdinger 等已成功通过测定血液中 *Gluc* 荧光素酶活性定量评价体内诸如肿瘤生长等生理过程^[4]。

本研究拟用水动力注射法将 *Gluc* 基因表达质粒尾静脉注射到小鼠体内, 通过在不同时间点连续采

血检测小鼠血液中 *Gluc* 荧光素酶活性, 来反映 *Gluc* 基因在小鼠体内的表达动力学变化, 建立一种简单、快速和方便的实时动态监测水动力注射基因的体内表达的方法。

1 材料与方法

1.1 质粒、菌株、细胞和动物

p*Gluc*-Basic 质粒购自 NEB 公司; pAAV2neo、pAAV2neo-*Fluc* 质粒由本室构建保存; Max Efficiency DH5 α TM 为 Invitrogen 公司产品; Huh7 和 HepG2 细胞购自 ATCC, 由本室保存, 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液培养; 雄性 BALB/c 小鼠购自中国医学科学院实验动物研究所。

1.2 试剂

限制酶和连接酶购自 NEB 公司; 质粒大提试剂盒购自 Qiagen 公司; DMEM 培养基、胎牛血清购自北京五加和生物医学研究所有限公司; 脂质体 lipofectamineTM2000 为 Invitrogen 公司产品; *Gaussia* luciferase assay kit 购自 NEB 公司; 动物成像底物腔肠素(Coelenterazine)为美国 Prolum/Nanolight 产品。

1.3 *Gluc* 表达质粒的构建

根据 p*Gluc*-basic 序列设计引物。上游引物: 5'-ttaggtaccgccaccatgggagtc-3', 下游引物: 5'-tgccgaattcctcgagcggccgcttagt-3', 下划线为酶切位

点,上游引物酶切位点为 *Kpn* I,下游为 *Eco*R I。引物由 Invitrogen 公司合成。以 pGluc-Basic 为模板,PCR 扩增得到含 *Gluc* 目的片段。PCR 扩增条件为:94°C 5 min;94°C 1 min,60°C 30 s,72°C 30 s,25 个循环;72°C 7 min。1%琼脂糖凝胶电泳,按琼脂糖凝胶回收试剂盒回收目的片段,*Kpn* I、*Eco*R I 双酶切后,克隆入 pAAV2neo 表达载体,获得 *Gluc* 表达质粒 pAAV2neo-Gluc,酶切及测序鉴定。

1.4 细胞转染及 *Gluc* 活性检测

HepG2、Huh7 细胞接种于 24 孔细胞培养板 (1×10^5 /孔),参照说明书方法用 lipofectamineTM2000 将 pAAV2neo-Gluc 质粒转染至 HepG2、Huh7 细胞中。转染 48 h 后,收集每孔细胞培养上清和细胞。将细胞用 PBS 清洗 3 遍,每孔加入 200 μ L 细胞裂解缓冲液(150 mmol/L 氯化钠,1% NP-40,0.5% 脱氧胆酸,0.1% SDS,50 mmol/L Tris-HCl pH 8.0,2 μ L 蛋白酶抑制剂),冰上放置 30 min 后,4°C 13 000 r/min 离心 30 min,将上清移至新的 EP 管中,并测量体积。按照说明书,取 20 μ L 细胞培养上清或细胞裂解液,加入 *Gaussia* luciferase 分析试剂盒中的底物 50 μ L,用发光检测仪(ModulusTM Luminometer)测定其相对光强度单位(Relative light unit,RLU),换算成 24 孔细胞培养板每孔细胞培养上清或细胞内总 RLU。

1.5 *Gluc* 体内表达及分布观察

采用水动力注射法,将 1.9 mL 含质粒 DNA 的生理盐水在 5~6 s 内经小鼠尾静脉注射至体重 19 g 的 BALB/c 小鼠体内。一只小鼠注射 10 μ g pAAV2neo-Gluc,另一只小鼠注射等摩尔数的 pAAV2neo-Fluc,约为 11.7 μ g。24 h 后,应用 Xenogen IVISTM50 Imaging system 观察 *Gluc* 体内表达及分布。其过程为:将注射 pAAV2neo-Gluc 质粒小鼠放入系统麻醉室麻醉后,尾静脉注射 300 μ L 含 50 μ g 腔肠素的 PBS,1 min 后 CCD 系统收集光子 5 s;注射 pAAV2neo-Fluc 质粒的小鼠则腹腔注射适量的 D-荧光素(150 mg/kg),放入系统麻醉室中麻醉,10 min 后,CCD 系统收集光子 5 s。

1.6 水动力法注射小鼠 *Gluc* 表达质粒及检测

将 15 只 6~8 周大、体重为 21~23 g 的雄性 BALB/c 小鼠分为 5 组,每组 3 只小鼠。其中 4 组为

实验组,按照注射 *Gluc* 表达质粒 DNA 剂量的不同分别为 0.1、1、10、50 μ g 每组,剩余一组为生理盐水对照组。采用水动力法,在 5~6 s 内实验组每只小鼠尾静脉注射 2.2 mL 含相应质量 *Gluc* 表达质粒 DNA 的生理盐水,对照组每只小鼠只注射 2.2 mL 生理盐水。注射 2 h、4 h、6 h、8 h、10 h、12 h、24 h、48 h、60 h、72 h、96 h、120 h 后,每只小鼠尾静脉采血 2.5 μ L,加入 *Gaussia* luciferase 分析试剂盒中的底物 50 μ L,用发光检测仪测定其相对光强度单位。在此基础上,为了进一步了解 *Gluc* 的检测灵敏度,设计了更低 DNA 剂量的实验:将 12 只 5~7 周大、体重为 18~20 g 的雄性 BALB/c 小鼠分为 4 组,每组 3 只小鼠。其中 3 组为实验组,按照注射 *Gluc* 表达质粒 DNA 剂量的不同分别为 0.001、0.01、0.10 μ g 每组,剩余一组为生理盐水对照组。采用水动力法,在 5~6 s 内实验组每只小鼠尾静脉注射 1.9 mL 含相应质量 *Gluc* 表达质粒 DNA 的生理盐水,对照组每只小鼠只注射 1.9 mL 生理盐水。注射 2、6、10、24、48、72、96、120 h 后,按前述方法测定血液中 *Gluc* 荧光素酶活性。

2 结果

2.1 *Gluc* 表达质粒的酶切鉴定及测序

根据前述方法扩增 *Gluc* 目的片段,图 1 为表达载体结构示意图,其中包括 CMV 启动子、*Gluc* 基因、牛生长激素的 polyA 加尾信号、AAV2 的倒转末端重复序列(ITR)。质粒骨架上有 *neo* 基因表达单位,可用于转染细胞后加 G418 选择培养。酶切鉴定结果表明,用 *Kpn* I 和 *Eco*R I 酶切可得到 1 条大小 600 bp 左右的目的片段,而空载体酶切只有 1 条带(图 2)。测序表明 *Gluc* 序列完全正确。

2.2 *Gluc* 表达质粒转染细胞后 *Gluc* 的表达

由于水动力注射基因主要在肝细胞中表达,本研究首先检测了 *Gluc* 表达质粒在 2 株肝来源细胞中的表达情况。将 pAAV2neo-Gluc 转染 Huh7 和 HepG2 细胞 48 h 后,检测细胞培养上清和细胞裂解液中 *Gluc* 荧光素酶活性。结果显示(图 3),在细胞培养上清和细胞裂解液中均检测到 *Gluc* 荧光素酶活性,且细胞培养上清中荧光素酶活性占总活性的 90%以上。表

明 Gluc 主要以具有活性的分泌型形式存在于细胞培养上清中。

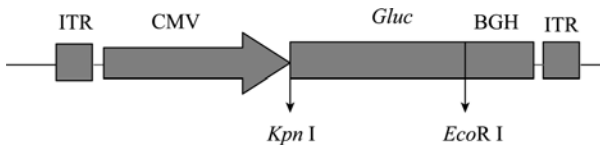


图 1 pAAV2neo-Gluc 表达载体结构示意图

Fig. 1 Schematic map of pAAV2neo-Gluc vector. ITR: AAV2 inverted terminal repeat; CMV: cytomegalovirus promoter; Gluc: *Gaussia* luciferase; BGH: bovine growth hormone polyA signal.

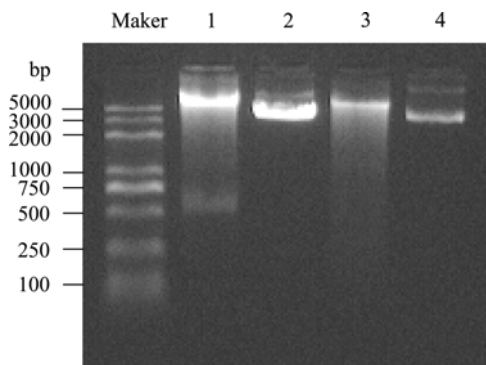


图 2 pAAV2neo-Gluc 的 *Kpn* I 和 *EcoR* I 双酶切鉴定

Fig. 2 Map of pAAV2neo-Gluc digested with *Kpn* I and *EcoR* I. Marker: BM5000; 1: pAAV2neo-Gluc digested with *Kpn* I and *EcoR* I; 2: pAAV2neo-Gluc; 3: pAAV2neo digested with *Kpn* I and *EcoR* I; 4: pAAV2neo.

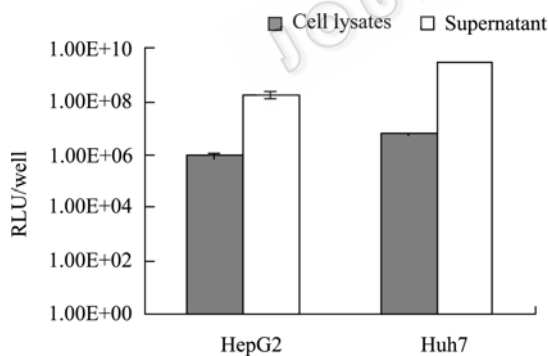


图 3 细胞裂解液和细胞培养上清 Gluc 荧光素酶活性比较

Fig. 3 Comparison of activity of *Gaussia* luciferase between supernatant and cell lysates. HepG2, Huh7 cells (0.1 million/well) were transfected and supernatant and cell lysates were assayed for luciferase activity with *Gaussia* luciferase assay kit (NEB) using a luminometer. Signals obtained from supernatant and cell lysates normalized to each 24-well. RLU: relative light unit.

2.3 小鼠活体成像

为了了解 Gluc 在体内的表达和分布情况, 用水

动力法尾静脉注射 BALB/c 相同拷贝数的 pAAV2neo-Gluc 或 pAAV2neo-Fluc, 24 h 后, 按照前述方法小鼠活体成像(图 4)。结果显示, 注射了 *Fluc* 质粒的小鼠显像表达主要集中于肝脏, 这与水动力注射方法转基因主要靶向肝脏有关; 而 Gluc 则呈全身分布, 提示 Gluc 在体内主要以具有活性的分泌型形式分泌至血液中。

2.4 注射 Gluc 表达质粒小鼠全血中 Gluc 表达水平

为了检测注射 *Gluc* 表达质粒小鼠血液中 Gluc 活性随时间的变化情况, 注射不同剂量 *Gluc* 表达质粒小鼠, 在不同时间尾静脉采血, 检测血液中 Gluc 荧光素酶活性。结果(图 5)显示, 0.1、1、10、50 μg 每只 4 个剂量组在注射 2 h 后均能检测到 Gluc 表达; 10 h 后达到高峰, 之后逐渐下降; Gluc 的表达水平与注射质粒 DNA 的量呈正相关。

注射更低剂量 pAAV2neo-Gluc 质粒的结果如图 6 所示。注射 0.01 μg 组小鼠的全血 Gluc 荧光素酶活性测定值表现出与 0.1 μg 组相似的表达动力学规律; 而且注射剂量低至 0.001 μg 亦能在全血中检测到 Gluc 荧光素酶活性。结果表明该检测方法具有极高的灵敏度。

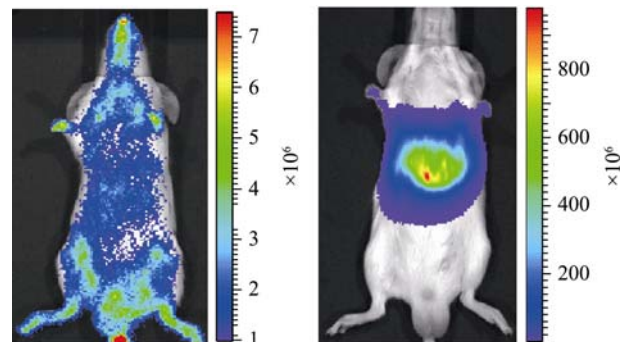


图 4 注射 pAAV2neo-Gluc、pAAV2neo-Fluc 小鼠活体成像

Fig. 4 Bioluminescence imaging living mice injected into pAAV2neo-Gluc or pAAV2neo-Fluc *in vivo*. pAAV2neo-Gluc or pAAV2neo-Fluc with the same number of copies was injected into BALB/c mouse. After 24 h, 50 μg of coelenterazine was injected into the animal with pAAV2neo-Gluc and the photon count was acquired for 5 s after 1 min of substrate injection. And the animal with pAAV2neo-Fluc was injected with 3 mg D-luciferin (150 mg/kg body wt) and imaged for 5 s after 10 min of substrate injection. The left mouse injected with pAAV2neo-Gluc; the right mouse injected with pAAV2neo-Fluc.

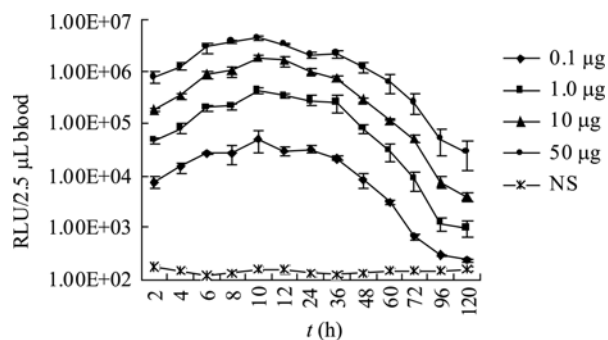


图5 *Gluc* 荧光素酶活性与时间、注射质粒剂量关系

Fig. 5 Relationship between activity of *Gaussia* luciferase and time or the dose of plasmid injection. Different doses of *Gluc* expression plasmid were injected into BALB/c mice by tail-vein hydrodynamic injection. Blood taken through tail-vein was assayed for luciferase activity using a luminometer at various time points. Results were presented at mean±SD ($n=3$). 0.1 μg, 1.0 μg, 10 μg, 50 μg, the dose of *Gluc* expression plasmid; NS: normal saline.

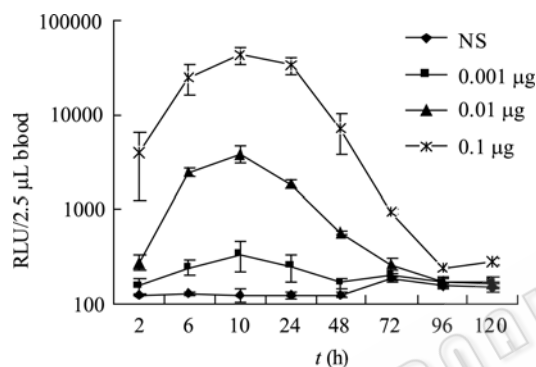


图6 *Gluc* 荧光素酶活性与时间、注射低质粒剂量关系

Fig. 6 Relationship between activity of *Gaussia* luciferase and time or the low dose of plasmid injection. Different doses of *Gluc* expression plasmid were injected into BALB/c mice by tail-vein hydrodynamic injection. Blood taken through tail-vein was assayed for luciferase activity using a luminometer at various time points. Results were presented at mean±SD ($n=3$). 0.001 μg, 0.01 μg, 0.10 μg, the dose of *Gluc* expression plasmid; NS: normal saline.

3 讨论

水动力法尾静脉注射作为一种有效的外源基因导入方式,常用于基因治疗研究。治疗基因的体内表达调控是基因治疗中的关键问题之一。选择合适的表达调控元件,检测不同表达调控元件对治疗基因的表达调控十分重要。遗憾的是,目前还没有十分灵敏、快速、简单的体外检测体内基因表达调控的方法。

本研究选择 *Gluc* 作为报告基因,构建了一种 *Gluc* 的表达质粒 pAAV2neo-*Gluc*。该质粒既能作为表达质粒,又有利于进一步包装成重组 AAV 病毒。用 pAAV2neo-*Gluc* 转染细胞 Huh7 和 HepG2 两株肝癌细胞发现 *Gluc* 可有效地分泌于细胞培养上清中,并具有活性,与 Tannous 等的报道一致^[5]。在此基础上,水动力法尾静脉注射相同拷贝数的 *Gluc* 和 *Fluc* 表达质粒于小鼠中,活体成像发现 *Fluc* 主要分布于肝脏中,而 *Gluc* 呈全身分布,提示 *Gluc* 可能有效地分泌于血液中,从而使尾静脉采血测定血液中 *Gluc* 荧光素酶活性成为可能。

本研究发现当水动力法尾静脉注射小鼠的质粒剂量不小于 0.1 μg 时,不同剂量组小鼠注射 2 h 后均能检测到 *Gluc* 表达,10 h 后达到高峰,这与 Liu 等用 pCMV-luc 水动力尾静脉注射 CD-1 小鼠得出的规律基本一致^[1]。10 h 之后 *Gluc* 表达量逐渐下降。这可能由于水动力尾静脉注射法外源基因主要在肝脏中表达^[1,6-7],而 CMV 启动子在肝脏很快被甲基化而导致外源基因表达沉默^[8]。此外,*Gaussia* 荧光素酶易分泌,肝脏内积累少,且半衰期短(20 min)^[4]。萤火虫荧光素酶则不能分泌且半衰期较长(3 h)^[9],容易在体内积累而产生累积效应。因此,*Gluc* 更能实时反映体内基因表达水平。

Rossmannith 等水动力注射 β-半乳糖苷酶基因于 BALB/c 小鼠发现,小鼠每克体重注射 DNA 量超过 1 μg 时,β-半乳糖苷酶表达量开始下降^[10]。但本研究的结果表明在 0.1~50 μg 每只小鼠的范围内 *Gluc* 的表达水平与注射质粒 DNA 的量呈正相关。更为重要的是,由于 *Gaussia* 荧光素酶比萤火虫和海蜃荧光素酶的灵敏度高 100 倍,因此注射很少量的 *Gluc* 表达质粒(0.001 μg 每只小鼠)就能够在血液中检测到表达。据我们所知,这是首次报道水动力注射小鼠极低剂量 *Gluc* 表达质粒时,血液中检测到 *Gluc* 表达。本研究结果表明,每只小鼠水动力法尾静脉注射 0.01~50 μg 均可有效地体现 *Gluc* 在体内的表达变化规律。

由于检测所需的血量很少(2.5 μL/次),并且用全血就可以检测^[4],不需要分离血浆或血清,因此可以用密集的时间点尾静脉采血,加之 *Gluc* 在体内

较短的半衰期, 从而实现体内过程的体外实时动态监测。此外, 由于不需要处死小鼠, 因此对同一小鼠实现了连续动态监测, 降低了不同实验动物之间带来的实验误差, 增加了实验结果的可信度。本研究首次结合了水动力注射方法与 Gluc 的高效分泌、高灵敏度、低分子量、短半衰期等特点, 简单、快速和方便地实现了体内基因表达变化的体外实时动态监测, 为基因表达调控以及代谢动力学研究提供了有力工具。

致谢 感谢中国人民解放军军事医学科学院输血医学研究所詹林盛教授、周勇博士在小鼠水动力尾静脉注射中给予的帮助以及本室其他研究人员对本实验的支持与帮助。

REFERENCES

- [1] Liu F, Song YK, Liu D. Hydrodynamics-based transfection in animals by systemic administration of plasmid DNA. *Gene Ther*, 1999, **6**(7): 1258-1266.
- [2] Yang PL, Althage A, Chung J, et al. Hydrodynamic injection of viral DNA: a mouse model of acute hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**(21): 13825-13830.
- [3] Cheng G, Davis RE. An improved and secreted luciferase reporter for schistosomes. *Mol Biochem Parasitol*, 2007, **155**(2): 167-171.
- [4] Wurdinger T, Badr C, Pike L, et al. A secreted luciferase for *ex vivo* monitoring of *in vivo* processes. *Nat Methods*, 2008, **5**(2): 171-173.
- [5] Tannous BA, Kim DE, Fernandez JL, et al. Codon-optimized gaussian luciferase cDNA for mammalian gene expression in culture and *in vivo*. *Mol Ther*, 2005, **11**(3): 435-443.
- [6] Sebestyén MG, Budker VG, Budker T, et al. Mechanism of plasmid delivery by hydrodynamic tail vein injection. I. Hepatocyte uptake of various molecules. *J Gene Med*, 2006, **8**(7): 852-873.
- [7] Suda T, Liu D. Hydrodynamic gene delivery: its principles and applications. *Mol Ther*, 2007, **15**(12): 2063-2069.
- [8] Argyros O, Wong SP, Niceta M, et al. Persistent episomal transgene expression in liver following delivery of a scaffold/matrix attachment region containing non-viral vector. *Gene Ther*, 2008, **15**(24): 1593-1605.
- [9] Hyoudou K, Nishikawa M, Umeyama Y, et al. Inhibition of metastatic tumor growth in mouse lung by repeated administration of polyethylene glycol-conjugated catalase: quantitative analysis with firefly luciferase-expressing melanoma cells. *Clin Cancer Res*, 2004, **10**(15): 7685-7691.
- [10] Rossmanith W, Chabicovsky M, Herkner K, et al. Cellular gene dose and kinetics of gene expression in mouse livers transfected by high-volume tail-vein injection of naked DNA. *DNA Cell Biol*, 2002, **21**(11): 847-853.

快 讯

上海生科院召开动物模型与免疫学专题研讨会

9月29日~30日, 上海生科院召开了生科院发展战略研讨会的第二次专题会议——“动物模型与免疫学专题研讨会”。生科院各研究所(中心)从事动物模型与免疫学相关研究工作的课题组长约40余人参加了会议。

生科院发展战略研究中心主任林其谁院士在致辞中首先指出, 动物模型与免疫学对生科院的发展都是非常关键的。在生科院建立比较完整的动物模型体系, 对于不同学科、不同阶段的深入研究将非常有利。近几年免疫学的发展非常快, 研究内容越来越广泛和深入, 是生命科学新的成长点。希望此次战略研讨会能够促进生科院在免疫学领域的相关研究迈上一个新台阶。

生化与细胞研究所的惠利健研究员、神经科学研究所的孙强研究员、健康科学研究所刘廷析研究员、营养科学研究所的陈雁研究员和巴斯德研究所的张岩研究员分别就动物模型的研究工作做了相关主题报告。生化与细胞研究所的刘小龙研究员、健康科学研究所的张雁云研究员和巴斯德研究所的李斌研究员则针对免疫学研究进展情况作了相关主题报告。会议就生科院在动物模型和免疫学研究的总体发展规划方面展开了热烈的讨论。与会专家希望在生科院层面上建立系统的模式动物平台体系, 完善平台的公共管理, 实现实验模式动物的标准化, 提升生科院基础研究的层次。建议利用动物中心的资源优势, 为生科院各研究所的科研工作提供服务。在免疫学研究方面, 专家们强调免疫学的研究要与临床相结合, 生科院既要形成合力, 发挥整合优势, 同时, 各研究所又要保持各自的研究特点。

在听取专家的报告后, 陈晓亚院长作了重要讲话。他指出动物模型和免疫学都是生科院重要的研究内容。他特别强调生科院既要加强模式动物研究队伍的建设, 更要增强服务意识, 为研究所的发展做好服务工作。他指出生科院的战略研讨工作要根据国家的需要, 社会经济的需求, 以及学科发展的方向, 结合科学家创新的思维来确定战略方向。

李林副院长在会议总结中提出, 此次战略研讨会后, 要组成相关的学科兴趣小组, 经常组织学术活动, 加强各研究所之间的交流。各兴趣小组在进一步研讨的基础上, 撰写相关学科发展规划建议的书面报告, 为生科院及中科院“十二五”规划的制定提供依据。

来源: 上海生命科学研究院