

# 带 Myc、His 标签的 SPAG4L 真核表达载体的构建与表达

陈颜亮<sup>1</sup>, 郑治<sup>1</sup>, 王剑龙<sup>1</sup>, 周晓哲<sup>1</sup>, 李艳<sup>2</sup>, 杨梦<sup>2</sup>, 黄利华<sup>2</sup>, 邢晓为<sup>2</sup>

1 中南大学湘雅三医院骨科, 湖南 长沙 410013

2 中南大学湘雅三医院医学实验中心, 湖南 长沙 410013

陈颜亮, 郑治, 王剑龙, 等. 带 Myc、His 标签的 SPAG4L 真核表达载体的构建与表达. 生物工程学报, 2013, 29(11): 1654-1662.

Chen YL, Zheng Z, Wang JL, et al. Construction of eukaryotic expression vector of SPAG4L tagged with Myc and His. Chin J Biotech, 2013, 29(11): 1654-1662.

**摘要:** 为了获得带有 His、Myc 双标签的 SPAG4L 蛋白, 建立能够稳定表达该蛋白的细胞系, 本研究利用 PCR 技术从人睾丸 cDNA 中扩增 SPAG4L 开放阅读框, 构建到 pcDNA3.1(+)-myc-his 真核表达载体中进行测序和双酶切验证。将 pcDNA3.1/myc-His(-)/SPAG4L 质粒和空白载体分别转染 HeLa 细胞, G418 筛选后建立稳定转染细胞系。用 Western blotting 和免疫荧光技术对新建立的稳定转染细胞系进行检测。结果表明, 成功扩增了 SPAG4L 基因, 构建到 pcDNA3.1/myc-His(-)A 真核表达载体后, 经酶切和测序验证所插入的 SPAG4L 序列完全正确; pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 转染 HeLa 细胞后, 经 G418 筛选后建立了稳定转染细胞系。Western blotting 检测后发现, 新建立的细胞系能够正确表达 SPAG4L 及其标签蛋白, 进一步的免疫荧光实验发现, SPAG4L 能够和内质网标签蛋白 PDI 共定位。研究结果所提供的稳定转染细胞系将为下一步进行免疫共沉淀和 pull-down 实验提供了有力的工具。

**关键词:** SPAG4L, 标签, 转染, 真核表达, 蛋白功能

**Received:** January 31, 2013; **Accepted:** May 13, 2013

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China (No. 81170615), Hunan Provincial Science and Technology Project (No. S2010R1040).

**Corresponding author:** Xiaowei Xing. Tel: +86-731-88618311; E-mail: xingxiaowei2002@aliyun.com

国家自然科学基金 (No. 81170615), 湖南省科技计划 (No. S2010R1040) 资助。

# Construction of eukaryotic expression vector of SPAG4L tagged with Myc and His

Yanliang Chen<sup>1</sup>, Zhi Zheng<sup>1</sup>, Jianlong Wang<sup>1</sup>, Xiaozhe Zhou<sup>1</sup>, Yan Li<sup>2</sup>, Meng Yang<sup>2</sup>, Lihua Huang<sup>2</sup>, and Xiaowei Xing<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Orthopedics, Third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, 410013, Hunan, China

<sup>2</sup> Center for Experimental Medicine Research, Third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, 410013, Hunan, China

**Abstract:** The aim of this study is to establish stable transfected cell lines which could produce SPAG4L protein labeled with Myc and His tags *in vitro*. The open reading frame (ORF) of human SPAG4L was amplified by PCR and the fragments were cloned into eukaryotic expression vector pcDNA3.1/myc-His(-)A. The recombinant plasmids of pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L were verified by sequencing and digestion with enzymes. Then, the recombinant plasmids were introduced into HeLa cells and screened by G418. Western blotting was performed to detect the expression of SPAG4L and its tags in stable transfected cell lines. SPAG4L and its tags were expressed in the stable cell lines transfected with pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L, but not in the control group. Further study showed that SPAG4L colocalized with the endoplasmic reticulum(ER) marker PDI by immunofluorescence. The stable transfected cell lines established in this study will provide a powerful tool for further studies such as co-immunoprecipitation and pull-down.

**Keywords:** SPAG4L, tag, transfection, eukaryotic expression, protein function

精子发生障碍是引起男性不育的主要原因之一,在精子发生过程中,生殖细胞先后经历精原细胞有丝分裂阶段、精母细胞的减数分裂阶段和精子细胞的变态成形阶段,最后发育为成熟的精子<sup>[1-3]</sup>。在精子发生过程中的每个阶段都会有一些特异性的基因发挥特定作用,维持精子发生这一重要生殖生理活动<sup>[3]</sup>。

当前国内外的研究认为,Y染色体上的 *AZF* 基因微缺失与男性不育有关<sup>[4-5]</sup>。除了 *AZF* 基因外,还有许多常染色体上的基因也参与精子发生过程<sup>[6-7]</sup>。近年来研究发现,一个新的包含 SUN 结构域的蛋白家族参与精子发生过程。该蛋白家族最为明显的特征是 C 端有一个保守的 SUN 结构域,靠近 N 端有跨膜区(TM),TM 和 SUN 结构域之间有 coiled-coil 区<sup>[8-10]</sup>。目前已经发现在哺乳动物中至少存在 5 种以上 SUN 结构

域蛋白,已报道的有 SUN1、SUN2、SUN3、SPAG4 (又称 SUN4) 和 SPAG4L(又称 SUN5 或 TSARG4) 等<sup>[10]</sup>。

在前期研究中,我们从人类精子尾部基因 *SPAG4* 出发,克隆了一个与该基因同处染色体 20q11.21 区域的人类睾丸新基因 *SPAG4L*(或 *SUN5*) (GenBank Accession No. AF401350)<sup>[11-13]</sup>。通过对不同发育阶段的小鼠研究发现, *Spag4L* (或称 *SRG4*) 基因是一个小鼠睾丸特异性表达基因,其表达严格受生长发育调控<sup>[14]</sup>。近年来研究发现,小鼠 *Spag4L* 蛋白主要在精母细胞、圆形精子细胞及成熟精子细胞中表达,在精原细胞中不表达<sup>[13-15]</sup>。通过对 *SPAG4L* 及其突变体的亚细胞定位发现, *SPAG4L* 在细胞的内质网和核膜表达,跨膜区(TM)和 coiled-coil 区对于 *SPAG4L* 在核膜上的定位是必需的<sup>[13]</sup>。

Frohnert 等<sup>[15]</sup>研究发现, Spag4L 在小鼠睾丸中有两个转录本, 该蛋白在精子中介导核膜和顶体的连接。我们研究发现, Spag4L 蛋白在分离的小鼠精母细胞中能够与内质网标志物 PDI 和内核膜标志物 Lamin B1 共定位。通过对减数分裂中 Spag4L 的表达变化进行观察, 发现 Spag4L 在减数分裂过程中参与胞核的迁移和核膜重塑<sup>[13]</sup>。

为了获得 SPAG4L 蛋白, 前期研究中我们成功地用 PQE-30 对 SPAG4L 的 C 末端进行了原核表达<sup>[16]</sup>, 该蛋白可用于研究 SPAG4L 的 C 端 SUN 结构域区的功能, 但是不能用于研究 N 端 SPAG4L 的功能。SPAG4L 是通过 N 端与核膜上的分子相互作用, 从而滞留在核膜上。我们试用了几种原核表达载体对 SPAG4L N 端进行表达, 均未成功。为了获得带有 His、Myc 双标签的 SPAG4L 全长蛋白, 本研究从人睾丸 cDNA 中扩增 SPAG4L 开放阅读框, 构建到 pcDNA3.1/myc-His(-)A 真核表达载体的 CMV 启动子下游, 获得 pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 重组质粒。随后, 将该重组质粒导入到 HeLa 细胞, 经 G418 筛选后, 挑取单克隆建立稳定转染 SPAG4L 的细胞系, 该细胞系能够表达带有 Myc 和 6×His 标签的 SPAG4L 蛋白。通过本研究, 建立稳定表达 SPAG4L 全长蛋白的细胞系, 将为下一步进行免疫共沉淀和 pull-down 实验提供了理想的蛋白, 为深入研究 SPAG4L 蛋白定位在核膜上的分子机制奠定了基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

人睾丸 cDNA、感受态细菌 JM109 及 HeLa

细胞由本实验中心保存; Easy-A 高保真 PCR 扩增酶购自 Agilent 公司; SPAG4L 抗体购自 ABGAB 公司(用于免疫荧光) 和 Proteintech 公司(用于 Western blotting); PDI 抗体购自 Santa Cruz 公司; G418 购自 Amresco 公司; 限制性内切酶购自 Fermentas 公司; pcDNA3.1/myc-His(-)A 载体购自 Invitrogen 公司; His 单克隆抗体、Myc 单克隆抗体、GAPDH 单克隆抗体、FITC 标记山羊抗兔 IgG(H+L)、Cy3 标记山羊抗小鼠 IgG(H+L) 均购自碧云天生物技术研究so; 高糖 DMEM 培养基、Lipofectamine™2000、胎牛血清购自 Gibco 公司等。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 PCR 扩增 SPAG4L 基因开放阅读框

根据我们提交国际 GenBank 登录的序列, 用 PCRDESN 软件设计引物, 在上游引物中引入酶切位点 *Nhe* I, 在下游引物中引入酶切位点 *Kpn* I, 并分别在上游和下游引物的 5'端加上保护碱基。10 μL PCR 扩增体系如下: 10×Easy-A 反应缓冲液 1 μL, 2.5 mmol/L dNTPs 1 μL, 上、下游引物各 0.1 μL, Easy-A 高保真 PCR 扩增酶 0.2 μL, 睾丸 cDNA 模板 0.8 μL, 加双蒸水补充至 10 μL。在 PE9700 型 PCR 仪上进行 PCR 扩增, PCR 反应条件为: 95 °C 预变性 2 min 30 s; 94 °C 变性 30 s, 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 扩增 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min, 最后降至 4 °C 保温。扩增产物经 15 g/L 琼脂糖电泳进行检测。

#### 1.2.2 pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 重组质粒的构建

按照参考文献[10]所述方法将 PCR 扩增的 SPAG4L 基因片段插入到 pUCm-T 载体, 转化感受态 JM109 后, 在含有氨苄青霉素的 LB 固体

培养基上培养。所筛选阳性克隆经 PCR 扩增鉴定后抽提质粒进行双酶切,回收目的片段,亚克隆到 pcDNA3.1/myc-His(-)A 表达载体中。所筛选的克隆经 PCR 鉴定后,抽提质粒进行酶切鉴定和测序。

### 1.2.3 稳定转染 pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 细胞系的建立

将消化好的 HeLa 细胞接种 6 孔板,每孔接种约  $1 \times 10^5$  个细胞,待细胞融合至 80% 左右,按照 LipofectamineTM2000 操作说明书提供的方法将 pcDNA3.1/myc-His(-)A 空质粒和 pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 分别转染 HeLa 细胞,24 h 后,更换含有 G418(800 mg/L) 的选择性培养基进行筛选,每 3 天换液一次。筛选 35~40 d 后,获得 G418 抗性细胞克隆。检测阳性细胞克隆,用有限稀释法进行亚克隆,用含 G418 的培养基进行培养,观察克隆形成情况,待克隆形成后挑单克隆进行扩大培养,检测 SPAG4L 的表达,最终获得单克隆阳性表达 SPAG4L 的转染细胞系。

### 1.2.4 Western blotting 检测稳定转染细胞系中 SPAG4L 蛋白的表达

按照 RIPA 试剂盒说明书所述方法分别提取稳定转染 pcDNA3.1/myc-His(-)A 空质粒和 pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 的细胞总蛋白,测定浓度,经过 SDS-PAGE 电泳后转 PVDF 膜。Western blotting 检测按照常规方法进行。

### 1.2.5 免疫荧光技术检测 SPAG4L 表达

在 6 孔板底预先放置灭菌好的洁净盖玻片,接种细胞,放置到在 37 °C、50 mL/L CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 24 h,取出后用 D-Hanks 液洗脱 3 次,经 4% 多聚甲醛固定。参照我们已建立的方法进

行免疫荧光实验,检测 SPAG4L 蛋白、标签 Myc、标签 His 以及内质网标志蛋白 PDI 的表达<sup>[13]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 PCR 扩增 SPAG4L 基因结果

PCR 扩增 SPAG4L 基因开放阅读框,扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测,发现 SPAG4L 基因扩增条带大小符合实验设计。

### 2.2 pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 重组质粒的鉴定

挑取转化了 pUCm-T-SPAG4L 重组质粒的阳性克隆,在含氨苄青霉素的液体 LB 培养基中培养至合适的浓度,以菌液为模板,PCR 扩增 SPAG4L 基因,筛选阳性克隆。分别将 6 号和 2 号阳性克隆抽提质粒 DNA 后测序,将测序正确的 6 号质粒用 *Nhe* I 和 *Kpn* I 双酶切,回收目的基因片段,插入到同样经过 *Nhe* I 和 *Kpn* I 双酶切的 pcDNA3.1/myc-His(-)A 表达质粒中,筛选阳性克隆,用上述 SPAG4L 基因引物进行 PCR 检测,发现所挑选的阳性克隆能够扩增出 SPAG4L 基因(图 1),随后,抽提质粒,用限制性内切酶 *Nhe* I 和 *Kpn* I 进行双酶切分析,结果发现,重组质粒中所插入的 SPAG4L 基因片段大小正确(图 2)。对 pcDNA3.1/myc-His(-)A/

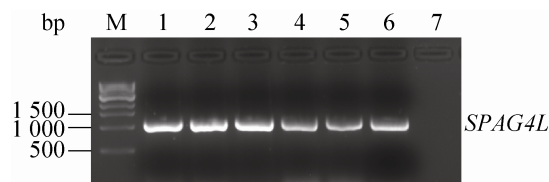


图 1 PCR 鉴定 pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 阳性克隆

Fig. 1 Positive clones of pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L were identified by PCR. M: 1 kb ladder; 1-5: positive clones; 6: positive control; 7: H<sub>2</sub>O.

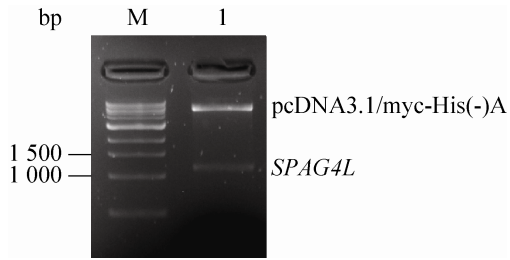


图 2 酶切鉴定 pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 重组质粒

Fig. 2 Identification of recombinant plasmid pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L by enzyme digestion. M: 1 kb ladder; 1: pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L plasmid.

SPAG4L 进行双向测序, 结果表明, 所插入的 *SPAG4L* 基因序列没有发生点突变和移码突变, 说明重组质粒 pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 构建成功。

### 2.3 Western blotting 检测稳定转染细胞系中 SPAG4L 蛋白表达

我们将筛选得到的亚克隆进行扩大培养, 提取蛋白, 应用 Western blotting 技术检测稳定转染细胞系中 SPAG4L 及其标签蛋白表达。结果发现, 在稳定转染 pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 的细胞系中, 带有 Myc 和 His 标签的 SPAG4L 蛋白能够正确表达, 蛋白大小在 43 kDa 左右, 蛋白大小与预期相符。而稳定转染了空白质粒 pcDNA3.1/myc-His(-)A 的细胞系中, 用 SPAG4L、Myc、His 抗体, 均未在 43 kDa 左右处检测到目的条带, 而内参 GAPDH 蛋白在转染 pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 组和空白质粒组均有表达(图 3)。

### 2.4 免疫荧光检测结果

为了观察 *SPAG4L* 稳定转染细胞系中 SPAG4L 及其标签蛋白是否表达, 应用兔抗人

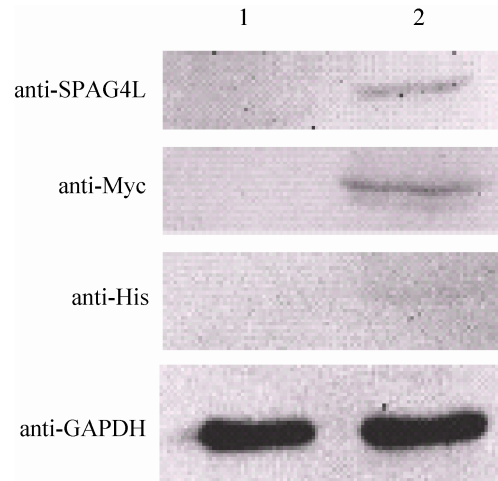


图 3 Western blotting 检测新建细胞系中 SPAG4L 及其标签蛋白的表达

Fig. 3 Expression of SPAG4L and its tags was detected in stable transfected cell lines. The protein samples were obtained from HeLa cell lines stably transfected with pcDNA3.1/myc-His(-)A (Lane 1) and pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L (Lane 2).

SPAG4L 抗体和 Myc 单克隆(小鼠来源) 抗体对稳定转染 *SPAG4L* 的细胞系进行免疫荧光检测。结果发现, 用兔抗人 SPAG4L 一抗杂交后, 用 FITC 标记山羊抗兔 IgG(H+L)进行检测, 可见细胞核膜及其周围出现绿色荧光信号; 用 Myc 单克隆抗体作为一抗进行免疫荧光实验, 用 Cy3 标记山羊抗小鼠 IgG(H+L) 进行检测, 可见细胞核膜及其周围出现红色荧光信号(图 4)。由此可见, SPAG4L 及其标签蛋白在稳定转染细胞系中能够正确表达, 即主要分布在细胞核膜及其周围。

PDI 是一种主要存在于内质网腔, 大小为 55 kDa 的多功能蛋白, 其功能是在内质网腔中催化二硫键的形成, 促使新生肽链成熟成有生物活性的蛋白质。本研究中, 我们将 PDI 作为内质网的标志蛋白与 SPAG4L 在稳定转染

SPAG4L 的细胞系中进行免疫共定位实验, 结果发现, 标记为绿色的 SPAG4L 蛋白能够和标记为红色的 PDI 蛋白共定位, 说明 SPAG4L 除了在核膜表达, 而且还在内质网表达, 该结果与前期本课题组研究的 SPAG4L 蛋白亚细胞定位结果一致(图 5)。PDI 是一个多功能蛋白, SPAG4L 是否与 PDI 相互作用, 还有待于进一步

研究。

### 3 讨论

精子发生是一个复杂的过程<sup>[1-2]</sup>。前期的研究发现, SUN 蛋白(SUN1、SUN2、SUN3、SPAG4 和 SPAG4L) 是一类新发现的核膜蛋白, 都参与了精子的发生<sup>[9,11,13,17-18]</sup>。

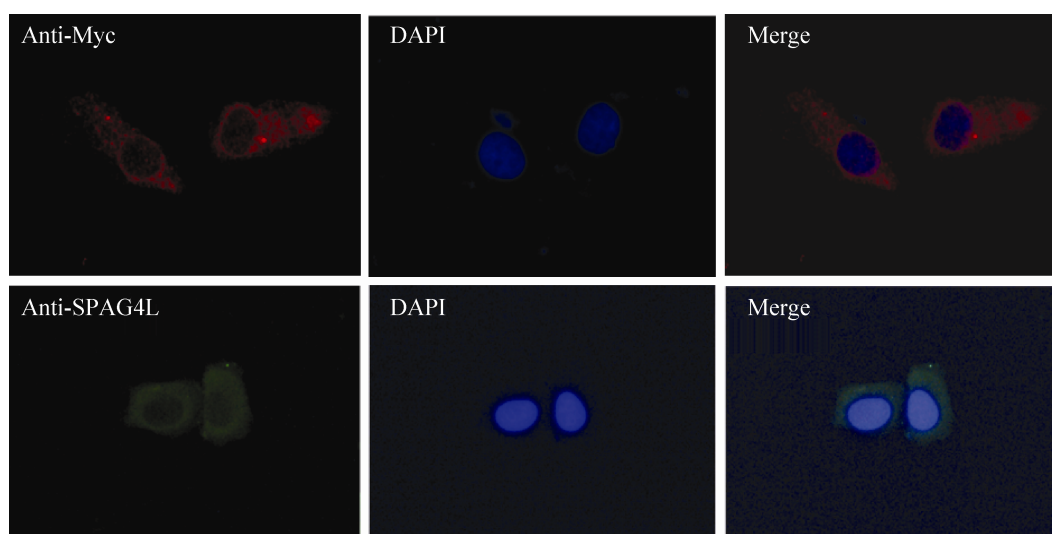


图 4 免疫荧光技术检测稳定转染 pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 细胞中 SPAG4L 和 myc 蛋白表达

Fig. 4 Expression of SPAG4L and myc-tag was detected in stable transfected cell lines by immunofluorescence (200 $\times$ ).

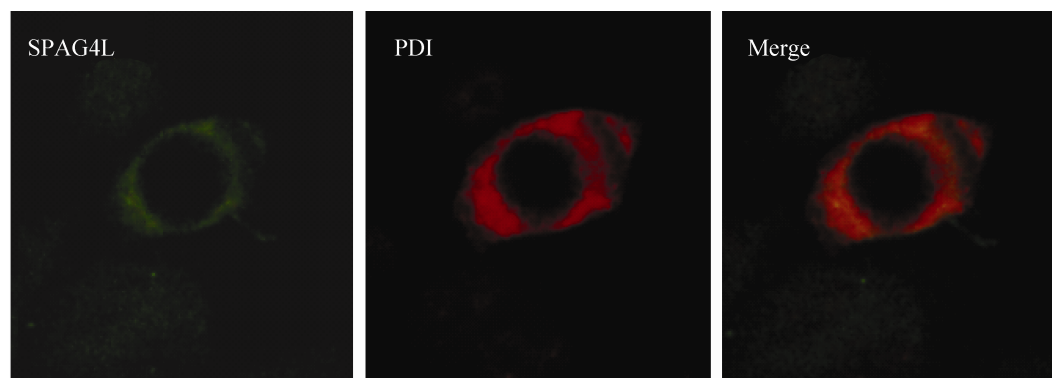


图 5 稳定转染 pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 的细胞中 SPAG4L 与内质网蛋白 PDI 免疫共定位

Fig. 5 SPAG4L colocalized with ER marker PDI by immunofluorescence in cells stably transfected with pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L (400 $\times$ ).

SUN1 和 SUN2 在精子发生的整个过程中均有表达, 将小鼠中 *Sun1* 基因敲除, 将会导致小鼠出现雄性不育<sup>[17]</sup>。SUN3 是一个睾丸特异性表达蛋白, 能够与 Nesprin-1 相互作用形成 LINC 复合物, 将分化中的精子核与周围的细胞骨架结构连接在一起, 从而确保精子核能够正确的成形和延伸, 这对于精子头部的形成至关重要<sup>[18]</sup>。SPAG4 主要在睾丸和胰腺中表达<sup>[19]</sup>, 该蛋白依靠亮氨酸拉链与人精子尾部蛋白 Odf1 相互作用, 在精子尾部的形成以及精子运动方面发挥着重要作用<sup>[11]</sup>。Kracklauer 等<sup>[20]</sup>研究发现, 在雄性果蝇中 *Spag4* 对于维持中心粒与细胞核的连接是必需的, 如果将 *Spag4* 基因敲除, 那么在圆形精子和长形精子中细胞核将不能正确定位, 出现核离散的现象, 雄性果蝇出现不育。重新将 *Spag4* 基因导入, 则生殖功能恢复, 其中 SUN domain 对于生殖功能恢复至关重要。

SPAG4L 是我们研究小组首先成功克隆的, 生物信息分析结果表明, SPAG4L 与 SPAG4 虽然同属 SUN 蛋白家族, 但是它们不是同一个蛋白, 它们的氨基酸序列有 45% 同源性。Chalmel F 等<sup>[21]</sup>对精子发生中基因表达变化的研究发现, *Spag4L* 基因是一个减数分裂的标志性基因。我们研究发现, *Spag4L* 基因在小鼠出生后 3 周开始高表达<sup>[14]</sup>。郭睿等<sup>[22]</sup>分离纯化了小鼠的各级生精细胞, 对 *Spag4L* 进行了荧光定量 PCR 检测, 结果发现, 从粗线期精母细胞阶段到长形精子细胞阶段 *Spag4L* 表达下调, 在圆形和长形精子细胞中其表达量分别下降了 33% 和 45%。这些结果说明, 在小鼠减数分裂中 *Spag4L* 蛋白发挥着重要的功能。通过对 SPAG4L 及其突变体的定位发现, SPAG4L 主要定位于细胞核膜和

内质网。根据扩散-滞留模型 (“Diffusion-Retention” model) 理论<sup>[10]</sup>, 从理论上分析, SPAG4L 蛋白必须与内核膜蛋白或核质蛋白相互作用才能保证在核膜上的锚定。

在前期研究中, 我们虽然成功对 SPAG4L 的 C 末端进行了原核表达, 但是该融合蛋白不能用于研究 SPAG4L 的 N 端功能。生物信息分析结果表明, SPAG4L C 端朝向胞质, N 端朝向核质, 靠近 N 端的地方有跨膜区, 前期研究中, 我们尝试用不同的原核表达载体对 *SPAG4L* 全长进行原核表达, 结果均未成功。因此, 我们尝试将 *SPAG4L* 放到 CMV 启动子下游进行表达, 同时, 希望所表达的融合蛋白带有 Myc 和 His 双标签, 以利于后续的实验研究。本研究中, 我们选择了真核表达载体 pcDNA3.1/myc-His(-)A, 成功构建了 pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 真核表达质粒, 通过体外转染细胞, 筛选获得稳定转染细胞系, 这些细胞系能够成功表达带 Myc、His 标签的 SPAG4L 全长蛋白。这样, 我们下一步可以通过 6 × His 标签对 SPAG4L 融合蛋白进行纯化, 通过 pull-down 实验研究筛选 SPAG4L 相互作用蛋白。此外, Myc 标签还可以用于免疫共沉淀实验, 为研究 SPAG4L 蛋白相互作用及信号通路提供了有力的工具。

总之, 我们成功构建了带有 His、Myc 双标签的 pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 真核表达质粒, 并成功获得了稳定转染 pcDNA3.1/myc-His(-)A/SPAG4L 的细胞系, 为深入研究 SPAG4L 蛋白的功能及其相互作用蛋白奠定了基础。

## REFERENCES

- [1] Chu DS, Shakes DC. Spermatogenesis. Adv Exp

- Med Biol, 2013, 757: 171–203.
- [2] Chocu S, Calvel P, Rolland AD, et al. Spermatogenesis in mammals: proteomic insights. *Syst Biol Reprod Med*, 2012, 58(4): 179–190.
- [3] Aston KI, Conrad DF. A review of genome-wide approaches to study the genetic basis for spermatogenic defects. *Methods Mol Biol*, 2013, 927: 397–410.
- [4] Vogt PH, Bender U. Human Y chromosome microdeletion analysis by PCR multiplex protocols identifying only clinically relevant AZF microdeletions. *Methods Mol Biol*, 2013, 927: 187–204.
- [5] Behulova R, Strhakova L, Boronova I, et al. DNA analysis of Y chromosomal AZF region in Slovak population with fertility disorders. *Bratisl Lek Listy*, 2011, 112(4): 183–187.
- [6] Yang S, Wang W, Lei C, et al. Localization and characterization of rat transmembrane protein 225 specifically expressed in testis. *DNA Cell Biol*, 2011, 30(1): 9–16.
- [7] Teng YN, Liao MH, Lin YB, et al. Expression of *lrwd1* in mouse testis and its centrosomal localization. *Int J Androl*, 2010, 33(6): 832–840.
- [8] Yu J, Lei K, Zhou M, et al. KASH protein *Syne-2/Nesprin-2* and SUN proteins *SUN1/2* mediate nuclear migration during mammalian retinal development. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(6): 1061–1073.
- [9] Morimoto A, Shibuya H, Zhu X, et al. A conserved KASH domain protein associates with telomeres, *SUN1*, and dynactin during mammalian meiosis. *J Cell Biol*, 2012, 198(2): 165–172.
- [10] Hasan S, Güttinger S, Mühlhäusser P, et al. Nuclear envelope localization of human *UNC84A* does not require nuclear lamins. *FEBS Lett*, 2006, 580(5): 1263–1268.
- [11] Shao X, Tarnasky HA, Lee JP, et al. *Spag4*, a novel sperm protein, binds outer dense-fiber protein *Odf1* and localizes to microtubules of manchette and axoneme. *Dev Biol*, 1999, 211(1): 109–123.
- [12] Xing XW, Li LY, Fu JJ, et al. Cloning of cDNA of *TSARG4*, a human spermatogenesis related gene. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2003, 35(3): 283–288 (in Chinese).
- 邢晓为, 李麓芸, 傅俊江, 等. 人类生精相关新基因 *TSARG4* 的 cDNA 克隆. *生物化学与生物物理学报*, 2003, 35(3): 283–288.
- [13] XZ Jiang, MG Yang, LH Huang, et al. *SPAG4L*, a novel nuclear envelope protein involved in nuclear migration in meiotic stage of spermatogenesis. *DNA Cell Biol*, 2011, 30(11): 875–882.
- [14] Xing XW, Li LY, Liu G, et al. Identification of a novel gene *SRG4*, expressed at specific stages of mouse spermatogenesis. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2004, 36(5): 351–359.
- [15] Frohnert C, Schweizer S, Hoyer-Fender S. *SPAG4L/SPAG4L-2* are testis-specific SUN domain proteins restricted to the apical nuclear envelope of round spermatids facing the acrosome. *Mol Hum Reprod*, 2011, 17(4): 207–218.
- [16] Jiang XZ, Yang MG, Xing XW. Prokaryotic expression and purification of *SPAG4L*, a novel human testis gene. *J Southern Med Univ*, 2010, 30(9): 2047–2050 (in Chinese).
- 蒋先镇, 杨明刚, 邢晓为. 人睾丸新基因 *SPAG4L* 的原核表达与纯化. *南方医科大学学报*, 2010, 30(9): 2047–2050.
- [17] Ding X, Xu R, Yu J, et al. *SUN1* is required for telomere attachment to nuclear envelope and gametogenesis in mice. *Dev Cell*, 2007, 12(6): 863–872.
- [18] Göb E, Schmitt J, Benavente R, et al. Mammalian sperm head formation involves different polarization of two novel LINC complexes. *PLoS ONE*, 2010, 5(8): e12072.
- [19] Kennedy C, Sebire K, de Kretser DM, O'Bryan MK. Human sperm associated antigen 4 (*SPAG4*) is a potential cancer marker. *Cell Tissue Res*, 2004, 315(2): 279–283.
- [20] Kracklauer MP, Wiora HM, Deery WJ, et al. The *Drosophila* SUN protein *Spag4* cooperates with the coiled-coil protein *Yuri Gagarin* to maintain association of the basal body and spermatid nucleus. *J Cell Sci*, 2010, 123(Pt 16): 2763–2772.
- [21] Chalmel F, Rolland AD, Niederhauser-Wiederkehr C, et al. The conserved transcriptome in human and rodent male gametogenesis. *Proc Natl Acad*



- Sci USA, 2007, 104(20): 8346–8351.
- [22] Guo R, Li XX, Wang HZ. Stage-specific expression analysis of mouse testis-specific genes in spermatogenic cells. Chin J Zool, 2009, 44(1): 39–46 (in Chinese).  
郭睿, 李喜霞, 王惠珍. 小鼠睾丸特异基因在生
- 精细胞中阶段性表达的定量分析. 动物学杂志, 2009, 44(1): 39–46.
- [23] Tapley EC, Ly N, Starr DA. Multiple mechanisms actively target the SUN protein UNC-84 to the inner nuclear membrane. Mol Biol Cell, 2011, 22(10): 1739–1752.

(本文责编 郝丽芳)



## 科学出版社科学出版中心生命科学分社新书推介

### 2012 工业生物技术发展报告

作者：中国科学院生命科学与生物技术局

ISBN：9787030356857

定价：98

开本：16 装帧：平装 页码：412

初版时间：2012-10-1

专业分类：生物技术

**读者对象：**《2012 工业生物技术发展报告》可供相关科研院所、高等院校和企业等从事工业生物技术研究 and 开发工作的科研管理人员、科研工作者和研发生产人员借鉴与参考。

#### 内容介绍



《2012 工业生物技术发展报告》是基于工业生物技术知识环境出版的信息产品之一，主要报道了工业生物技术领域内的重大规划与政策、技术和产品的研发进展、产业发展等。为了能够全面了解工业生物技术

发展的最新进展，本书设置了发展战略篇、研发进展篇、产业篇和青年人才篇。在选题上，着重突出了工业生物技术领域的热点和前沿。为了突出各领域的技术进展并使内容更有层次感，本书在研发进展篇采用主题的形式组织稿件，重点报道了合成生物学、工业微生物生理与代谢工程、生物炼制和生物发酵技术、工业蛋白质工程、生物过程工程、微藻生物能源等在工业生物技术领域中的研发进展等内容。为了扩大本报告的读者范围，使国外读者能了解中国工业生物技术的现状、产业情况，我们在形式上增加了英文题名、摘要，以及英文作者简介。此外，我们通过对 2011 年国内外工业生物技术领域重要事件的回顾，与读者一起梳理过去一年本领域发展的整体脉络。