

人类新基因 ACBP5 cDNA 的克隆及其同源物 在小鼠/鸡胚发育过程中的表达

王 峦^{1,2)}, 薛 鹏¹⁾, 程 睿²⁾, 付佳琪¹⁾, 陈 微³⁾, 慈宏亮^{1,2)}, 李亦平^{1,3)} *

(¹⁾北京师范大学生命科学院生物医学研究所, 北京 100875; ²⁾浙江赛尔生物医学研究院, 杭州 310006;

³⁾美国哈佛大学牙医学院 Forsyth 研究所, 波士顿 02115)

摘要 利用电子克隆的方法寻找具有重要结构域的人类新基因 ACBP5, 根据得到的序列信息用 RT-PCR 的方法获得全长基因. 通过生物信息学方法预测其结构, 采用整体原位杂交和组织 RT-PCR 的实验方法, 在小鼠和鸡胚胎实验模型中研究该基因在发育过程中的表达情况, 并对其功能进行初步的预测, 获得一个含有乙酰辅酶 A 结合蛋白 (acyl-CoA binding protein, ACBP) 结构域的人类新基因 ACBP5. ACBP5 基因的 cDNA 长度为 1083 bp, 生物信息学方法预测其定位在人第 1 号染色体上, 包含 7 个外显子, 6 个内含子, 包含一个 354 bp 的完整阅读框架, 编码一个 118 个氨基酸残基的蛋白. 在以小鼠胚胎和鸡胚为模型的整体原位杂交中, 以 ACBP5 基因全长编码区为探针的结果均显示该基因在胚胎头部特异表达, 并且主要集中在中脑与间脑之间的峡部. 成体小鼠的组织 RT-PCR 的结果显示, ACBP5 的同源基因在各组织中均有表达. 这提示 ACBP5 基因在不同物种中的表达可能比较保守, 并与头部发育有密切关系, 同时也对维持细胞的正常功能起到重要的作用.

关键词 ACBP5 基因, 生物信息学, 乙酰辅酶 A 结合蛋白结构域, 峡部

中图分类号 Q74, Q78

Cloning and Characterization of a Novel Human Gene ACBP5 cDNA

WANG Luan^{1,2)}, XUE Peng¹⁾, CHENG Rui²⁾, FU Jia-Qi¹⁾, CHEN Wei³⁾, CI Hong-Liang^{1,2)}, LI Yi-Ping^{1,3)} *

(¹⁾ Biomedical Research Institute, College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China;

²⁾ Zhejiang Cell Biomedical Research College, Hangzhou 310006, China;

³⁾ Forsyth Institute, Harvard School of Dental Medicine, Boston, MA 02115, USA)

Abstract Based on the bioinformatics, a novel human gene ACBP5 (acyl-CoA binding protein 5) cDNA was found and cloned into pCMV-sport6. The full length of ACBP5 cDNA is 1 083 bp and contains 7 exons and 6 introns. Its open reading frame (ORF) encodes a protein of 118 amino acid residues. The whole-mount *in situ* hybridization (WISH) of mouse and chicken embryo showed that the gene was specially expressed in the brain and mainly in the isthmus. The result of reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) of the mature mouse tissues showed that it was widely expressed in many organs. The result indicates that ACBP5 gene may have an essential role in the development of brain and the maintenance of the organs' normal functions.

Key words ACBP5 gene, bioinformatics, acyl-CoA binding protein domain, brain

乙酰辅酶 A (acyl-CoA) 在机体内三羧酸循环以及脂类的合成与分解代谢中起着至关重要的作用. 而作为其跨膜运载体的乙酰辅酶 A 结合蛋白 (acyl-CoA-binding protein, ACBP) 是一种重要的细胞内羧基载体. ACBP 蛋白是一个约 90 个残基分子量为 10 kD 的高度保守的小蛋白, NMR 波谱学推断出 ACBP 的结构主要是一种 α 蛋白, 包括 5 个短的 α 螺

旋和 3 个相连的 β 片层. 目前, 在脊椎动物、昆虫、植物和酵母中都发现有该种蛋白的存在^[1]. ACBP 可以

收稿日期: 2004-04-02, 接受日期: 2004-05-27

* 联系人 Tel.: 010-58809071, E-mail: YPLi@forsyth.org

Received: April 2 2004; Accepted: May 27, 2004

* Corresponding author Tel.: 010-58809071, E-mail: YPLi@forsyth.org

高亲和性地与已活化的中长链乙酰辅酶 A 结合^[2], 同时也是形成跨膜管道的重要成分^[3]. 现有的研究发现, 它可能是过氧化物酶增殖激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR- γ) 的一个靶基因, 在小鼠脂肪瘤细胞中负责将 PPAR- γ 的信号传导给 PPAR- γ 选择性配基 BRL49653^[4]. 同时, 它还可能与核内的肝实质细胞核因子-4 α (hepatocyte nuclear factor-4 α , HNF-4 α) 相互作用, 调节脂类和葡萄糖代谢相关基因的转录^[5]. 有报道表明, 利用 siRNA 技术降低 HeLa, Hep C2 和 Chang 细胞株中的 ACBP 表达水平后, 贴壁细胞的生长出现停滞, 并且脱离生长表面, 胸腺嘧啶与醋酸盐的合成也被阻断^[6]. 除此之外, ACBP 在生理和生化上还有很多重要的作用, 包括有可能作为一种神经肽参与 γ -氨基丁酸组素 (gamma-aminobutyric acid-ergic, GABAergic) 转运的调节^[7]. 这些说明, 作为各种重要代谢过程的调节因子和转运物质, ACBP 对哺乳动物细胞来说是不可缺少的. 然而现在对于 ACBP 基因在哺乳动物细胞中的表达调控机制还不是很清楚, 所以对于该种基因的研究具有重要的意义.

以计算机和互联网为工具的新基因的搜寻和蛋白功能分析是人类基因组图谱公布后生物医学研究的热点领域. 在日本的 RIKEN 研究小组公布的小鼠全长 cDNA 库的基础上, 本实验室结合人类基因组数据库, 利用基因结构和相似性同源分析方法成功地筛选到了一个全长 1083 bp 的人类新基因 ACBP5. 该基因编码一个 118 个氨基酸残基的蛋白, 并包含一个 ACBP 结构域. 由于小鼠和人的 cDNA 同源性高达 85%, 同时在鸡的基因组中进行比对也发现了同源性很高的同源基因, 所以本实验室以小鼠和鸡的胚胎为模型对该基因在高等脊椎动物模式生物发育过程中的表达谱进行了初步研究, 以揭示它在发育过程中所具有的功能.

1 材料和方法

1.1 材料

健康孕鼠购自北京大学医学部动物中心; M-MLV 逆转录酶购于 Invitrogen; 高保真的 PFU DNA 聚合酶购于宝生物工程大连有限公司; 地高辛标记试剂盒购于 Roche; 所有的引物均由北京博润公司合成; 测序工作由上海生工生物工程技术有限公司完成; QIAquick Gel Extraction Kit 购于 QIAGEN; Trizol 购于北京鼎国生物技术有限责任公司. pCMV-SPORT6 质粒载体购于 Stratagene; 大肠杆菌 DH5 α 为

本实验室储存; 其他试剂均为国产分析纯.

1.2 用电子克隆的方法获得 ACBP5 基因

我们用同源分析的方法在日本的 RIKEN 研究小组公布的小鼠“motif-containing protein”全长 cDNA 基因数据库中搜寻相应的同源人类基因, 获得了 13 个人类新基因, 其中包括新基因 ACBP5. 具体方法如下:

(1) 下载类别为“motif-containing protein”的小鼠新基因

(2) BLAST 的方法在人类基因组中搜寻与小鼠新基因具有同源序列的片段 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/seq/page.cgi?F=HsBlast.html&&ORG=Hs>);

(3) 下载人类基因组中与小鼠新基因具有同源序列的片段, 用 GenScan 软件分析这一片段中可能包含的人类新基因候选基因 (<http://genes.mit.edu/GENSCAN.html>);

(4) 用人类新基因候选基因与人类 EST 库比较, 确定基因的真伪; 对于确认的人类基因再与非冗余序列库进行比较, 淘汰已知功能的人类基因, 则得到人类新基因; 根据该基因序列设计引物, 用 RT-PCR 的方法验证. 将 RT-PCR 产物插入到载体 pCMV-SPORT6 的多克隆位点中, 酶切鉴定, 测序, 并用生物学软件对该基因的性质进行分析.

1.3 ACBP5 基因的生物信息学分析

利用生物信息学的软件和网上数据库等资源对基因的特性进行预测, 具体内容如下:

(1) 开放式阅读框架分析 (ORF): (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>) 确定开放式阅读框架的位置及其编码产物的大小.

(2) 电子基因定位: 查询该基因在基因组上的定位. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/seq/page.cgi?F=HsBlast.html&&ORG=Hs>)

(3) 对编码的蛋白进行亲疏水性分析: 链接至 (<http://www.expasy.org/cgi-bin/protscale.pl>), 输入蛋白序列进行分析.

(4) 蛋白跨膜区分析: 链接至 (<http://genome.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) 对蛋白进行分析, 结合疏水性区域分析结果进行评测.

(5) 对蛋白进行亚细胞定位: 利用 ExPASy - ProtParam 工具分析, 进行亚细胞定位.

(6) 蛋白质的功能预测: 链接至 (<http://smart.embl-heidelberg.de/>) 将蛋白质序列输入, 预测潜在功能区的功能.

1.4 RT-PCR 扩增及测序检测

根据已知的人类 cDNA 序列设计引物,RT-PCR 的方法在人类细胞株中扩增目的序列并测序.

P1 (sense): 5'-TGAAAGATGAAGAGGGTAC-3'

P2 (antisense): 5'-CAGAACTGATTTTATTAGCC-3'.

当培养的 HeLa 细胞达 80 %汇合时,采用 Trizol 试剂 (Invitrogen) 一步法提取细胞 RNA,紫外扫描定量后稀释成 0.1 g/L,使用逆转录酶 M-MLV (Invitrogen) 进行 mRNA 反转录:以 oligo (dT)₁₈ 为起始引物,依次加入无 RNase 的无菌水 10.4 μl,5 ×RT 缓冲液 4.0 μl,dNTP (250 μmol/L) 1.6 μl,mRNA (0.1 g/L) 1.0 μl,oligo (dT)₁₈ 引物 2.0 μl,反应条件为:65 s,37 °C 60 min,75 °C 5 min,MMLV 反转录酶 (200 MU/L) 在 37 °C 10 min 时加入.然后进行 PCR 扩增:取反转录产物 2 μl 作为模板,依次加入:10 ×PCR 缓冲液 3 μl,2.5 mmol/L dNTPs 3 μl,上游引物各 1 μl (10 pmol),下游引物各 1 μl (10 pmol),ddH₂O 10 μl,混合后加入 2.5 U Taq 酶.PCR 循环条件为:94 °C 35 s,55 °C 1 min,72 °C 35 s,32 个循环,最后在 72 °C 延伸 7 min.扩增产物进行测序验证.

1.5 原位杂交

参照文献[8]方法,以克隆在 pCMV-sport6 载体中的 1 kb 的人类 ACBP5 基因编码区的 cDNA 为模板,使用 DIG 标记试剂盒 (Roche) 以体外转录方法制备 DIG 标记的 RNA 探针,电泳检测合成结果后分别与各期的小鼠胚胎和鸡胚进行胚胎的原位杂交,实验过程中同时作阴性对照平行组和阳性对照平行组,阴性对照组以无菌水取代探针,阳性对照组选取在各期小鼠中表达部位明确的^[9,10] CNBP 基因的正义链.

1.6 组织半定量 RT-PCR

设计 acbp5 引物为:

正义 5'-TGAAAGATGAAGAGGGTAC-3'

反义 5'-CAGAACTGATTTTATTAGCC-3'

扩增片段长度预计约为 412 bp.内参对照为 GAPDH

正义 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAG-3'

反义 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3',

扩增产物为 452 bp.取小鼠成体各组织 100 mg,使用 Trizol 试剂 (Invitrogen),按照其试剂说明以一步法提取组织总 RNA.使用逆转录酶 M-MLV (Invitrogen) 进行逆转录(方法同前述).半定量 PCR 扩增条件为:94 °C 5 min,94 °C 45 s,57.2 °C 1 min,72 °C 1 min,循环

数为 32,72 °C 7 min.取 PCR 产物 10 μl,经 2 %琼脂糖凝胶电泳后照相并将扩增产物测序.

2 结果

2.1 ACBP5 的电子克隆

利用前述的方法克隆到新基因 ACBP5,其 cDNA 长 1083 bp,编码一个 118 个氨基酸的蛋白质,见 Fig. 1.

2.2 对 ACBP5 序列的生物信息学分析

2.2.1 用 ORF finder 对 ACBP5 基因的编码框进行预测 得到一个 354 bp 长的编码区序列,位于 ACBP5 cDNA 的 35 ~ 388 位核苷酸.含有起始密码子 ATG 和终止密码子 TGA,是一个完整的编码框.并且在终止密码子后面,有 Poly A 的信号 AATAAA (Fig. 1 中下划线标出).

2.2.2 ACBP5 在人类染色体上的定位及结构 得到 ACBP5 定位在人的第 1 号染色体上,长度约为 210 kb,包含 7 个外显子,6 个内含子 (Fig. 2).

人 ACBP5 基因和小鼠 AK002470 基因编码的氨基酸序列的同源性比较结果显示,两者的同源性达 84.7 % (Fig. 3).

2.2.3 ACBP5 基因编码的蛋白的结构域分析 显示该多肽 N 末端第 42 ~ 125 氨基酸残基处含有一个 ACBP 结构域,共 83 个氨基酸残基 (Fig. 4).

2.3 ACBP5 基因全长编码区的克隆

通过 RT-PCR 获得了 ACBP5 基因全长编码区序列的克隆,并将它克隆至 pCMV-SPORT6 质粒载体上.通过测序验证,与预测的基因相似性为 92.8 % (资料未给出).所得到的全长编码区的序列用于原位杂交探针的制备.

2.4 鼠胚和鸡胚的整装原位杂交

原位杂交结果显示,在 7.5 dpc 的小鼠胚胎中 (Fig. 5 A),ACBP5 基因主要在胚胎组织部分表达,在胚外组织没有深染.在 9.25 dpc 的小鼠胚胎中 (Fig. 5 B),ACBP5 基因特异地在端脑表达,而在 9.5 dpc 的小鼠胚胎中 (Fig. 5 C) 该基因在整个脑区都有大量的表达.在 10.5 dpc 的胚胎中 (Fig. 5 D) 基因的表达转移至脑的峡部,同时在菱脑有少量的表达.

在鸡胚原位杂交中,在第 12 期 (按照 HH 分期法) 的胚胎中 (Fig. 5 G),基因的表达在端脑以及中脑前部.在第 17 期鸡胚中 (Fig. 5 H),基因在整个脑室都有表达,但端脑中的表达量相对较大.在第 19 期鸡胚中 (Fig. 5 I),除继续维持脑室中的表达外,在峡部也出现特异性的染色.

```

1      ACCGGACACAGAGGGACGGAGCGAGCAAGGAGACATGGCTTCATCATTCTGCCCGCG
                                         M A S S F L P A
59     GGGGCCATCACCGGCGACAGCGGTGGAGAGCTGAGCTCAGGGGACGACTCCGGGGAGGTG
      G A I T G D S G G E L S S G D D S G E V
119    GAGTTCCTCCCATAGCCCTGAGATCGAGGAGACCAGTTGCCTGGCCGAGCTGTTTGAGAAG
      E F P H S P E I E E T S C L A E L F E K
179    GCTGCCGCGCACCTGCAAGGCCTGATTCAGGTGGCCAGCAGGGAGCAGCTCTGTACCTG
      A A A H L Q G L I Q V A S R E Q L L Y L
239    TATGCCAGGTACAACAGGTCAAAGTTGGAATTGTAATACTCCTAAACCAAGCTCTTTT
      Y A R Y K Q V K V G N C N T P K P S F F
299    GATTTTGAAGGAAAGCAAAATGGGAAGCTTGGAAAGCACTTGGTGATTCAAGCCCCAGC
      D F E G K Q K W E A W K A L G D S S P S
359    CCAAGCAATGCAGGAATATATCGCAGTAGTTAAAAAACTAGATCCAGGTTGGAATCCTCA
      P S N A G I Y R S S
419    GATACCAGAGAAGAAAGGAAAGCAAAATACAGGTTTTGGTGGCCAGTTATTAGTTC
479    TCTATATCATGAAGAAACCATCAGGGAAGAACGACAAAAATATATTGATTACTGCAGGG
539    AAAACAACATTGACCATATAAACCAAGCCATCAAATCGACACAATGTGGATGTGAACAC
599    AATGTGAAAGATGAAGACGAGGGTAGGGCTCTACTTCACTGGGGCCTGTGATCGAAGGAC
659    ATAAGGAACTAGTCACAGTGTTGCTTGCAACATAGAGGCTGACCATTAACTGTCAGGACT
719    AATGAAGGCCAAACAGCTTCTACATTATGCCTCTGCCTGTGAGTTTCTTATGCCTCTGCC
779    TGTGAGTTTCTGGATATTGTAGAGCTGCTGCTCCAGTCTGGTGCTGACCCCACTCTCCGA
839    GACCAGGATGGCTGCCTGCCAGAGGAGGTGACAGGCTGCAAAACAGTTTCTTTGGTGCTG
899    CAGCGGCACACAACCTGGCAAGGCTTAATCAAAAGACTGGAAGCACTGCACTGTGAATAGC
959    ATAAGGCTTCCATTATGAAAGAAAACACAAAAATAATACTTCTTTTCCACCCGCTTTTG
1019   GTATGTATTGGCTAATAAAATCAGTTCTGTGGAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
1079   AAAAA

```

Fig. 1 cDNA sequence of the human *ACBP5* gene

Coding sequences are shown together with the translated amino acid sequence. Initiative code (ATG) and stop code (TGA) are underlined. The polyadenylation signal sequences (AATAAA) are also underlined

Fig. 2 Genomic organization of *ACBP5* gene

The human *ACBP5* gene is composed of 7 exons and 6 introns distributed over approximately 210 kb. Solid bars represent exons. The locations of initiative code ATG, stop code TGA and polyadenylation signal (PolyA signal) are indicated

Fig. 3 Alignment of human *ACBP5* amino acid sequence with mouse AK002470

The consensus sequences are shadowed. They share 84.7 % similarity

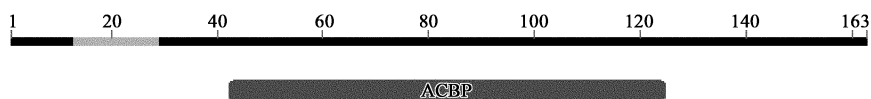


Fig. 4 Predicted domains of ACBP5 protein.
The red one represents ACBP domain

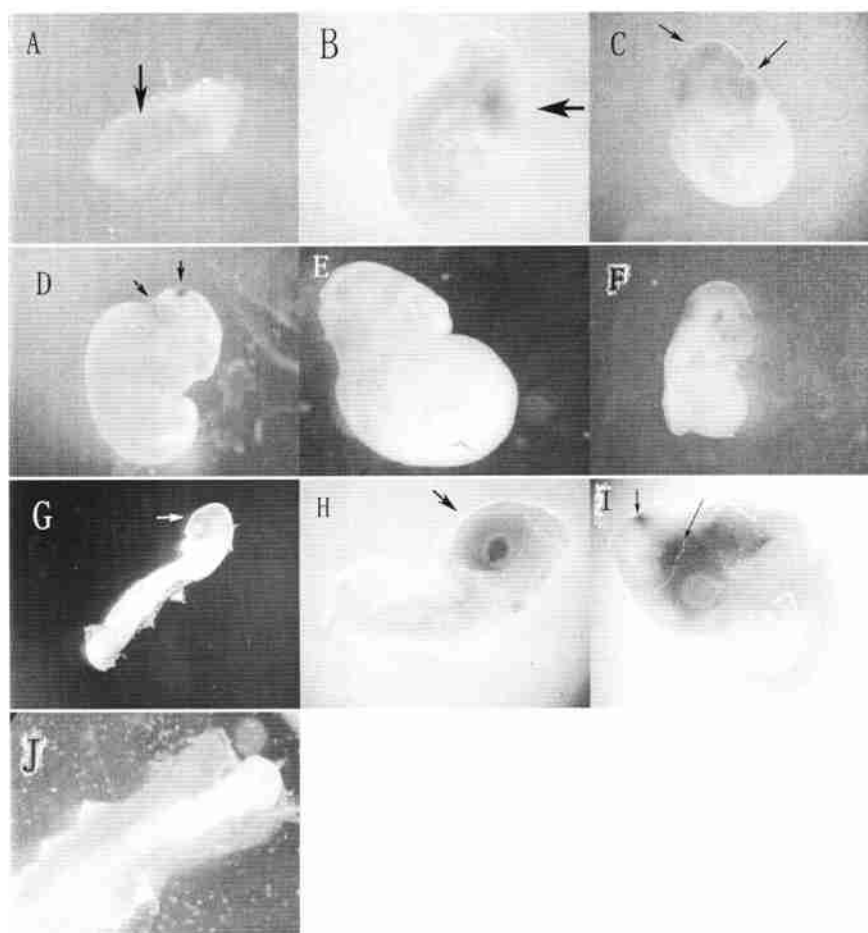


Fig. 5 Whole-mount *in-situ* hybridization of mouse embryo and chicken embryo
A—D show the *in-situ* hybridization result of mouse embryo (according to day post coitum, dpc)
A. 7.5 dpc; B. 9.25 dpc; C. 9.5 dpc; D. 10.5 dpc; E. Negative control; F. Positive control (CNBP as probe).
G—J show the result of *in-situ* hybridization in the chicken embryo (following Hamburger & Hamilton Stages)
G. Stage 12; H. Stage 17; I. Stage 19; J. Negative control
Arrow shows the stained part

2.5 成体鼠组织 RT-PCR 结果

Fig. 6 结果显示,在成体鼠组织中除肺部以外该基因的同源基因普遍表达,其中在睾丸、子宫、心脏、肌肉和肾脏中表达量比较高.提示该基因可能在胚胎早期的脑部发育中起重要作用,而在成体中的普遍表达说明该基因可能与维持机体的正常功能有关.

3 讨论

利用电子克隆获得并通过实验验证了 ACBP5

基因是一个全长的人类新基因,包括起始密码子、终止密码子和 polyA 尾.该基因具有完整的编码框,编码一个 166 个氨基酸残基,含有一个 ACBP 结构域的多肽.通过生物信息学分析该基因没有明显的跨膜区并且定位在细胞质中(结果未列出),因此我们初步认为,ACBP5 基因的产物有可能是作为乙酰辅酶 A 的载体而存在,负责对乙酰辅酶 A 进行跨膜的转运,因此可能在对能量有大量需求的部位有大量的表达.

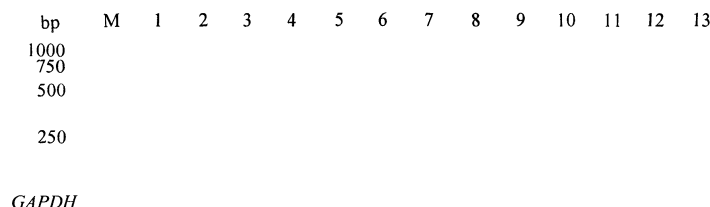


Fig. 6 RT-PCR result of matured mouse organs

Upper pattern M:Marker; 1:Negative-control; 2:eye; 3:cerebella; 4:uterus; 5:heart; 6:lung; 7:muscle; 8:brain;

9:testis; 10:kidney; 11:spleen; 12:intestines; 13:liver.

GAPDH was displayed lower to control for differences in loading

从 9.0 dpc 开始,小鼠胚胎的前脑膨大,视泡末端膨大^[11].从小鼠胚胎的原位杂交结果中可以看出,在 9.25 dpc 的小鼠胚胎中,*ACBP5* 基因在端脑中大量表达.这可能与该时期神经外胚层增厚,神经上皮细胞增殖所处的旺盛代谢状态有关.而在 9.5 dpc 的胚胎中,胚胎的端脑,中脑及部分后脑被深染,这与 9.5 dpc 之后小鼠的端脑和中脑脑泡壁增厚,脑腔增大所反应的细胞合成作用旺盛的情况是相符合的.在 10.5 dpc 的小鼠胚胎中,该基因的表达集中在峡部,这可能与 10.5 dpc 时菱脑基板迅速增厚有关.同时据以前的研究来自脑峡部的信号因子如 *Enr-1*、*FGF8* 等对中脑的发育分化起到主要的作用.*ACBP5* 在峡部的大量表达提示它可能也对中脑的后续发育起到重要的作用.

在鸡胚系统中所作的原位杂交研究与鼠胚中的结果非常相似.在 12 期鸡胚中深染的部分为胚胎的端脑,而在 17 期的鸡胚中深染部位扩展到整个脑区,而在 19 期的鸡胚中则深染部位进一步扩展,而且中脑与后脑间的峡部也被深染.这样的结果与鸡胚在相应阶段神经组织大量增殖的部位^[12,13]基本符合.

RT-PCR 的结果显示,*ACBP5* 的同源基因在小鼠成体各组织中分布广泛,这与在小鼠胚胎和鸡胚的原位杂交中所得的发育较成熟的胚胎中表达比较广泛的结果是相吻合的.这说明该基因可能对在成体组织中对维持细胞的正常代谢和功能起到重要作用.而在代谢比较旺盛的睾丸,心脏,肌肉等部位的较高量表达也合乎我们对 *ACBP5* 基因功能的推测.

综上所述,结合我们对 *ACBP5* 的功能预测、原位杂交结果以及胚胎发育相关知识,我们认为:*ACBP5* 基因可能作为乙酰辅酶 A 的载体和重要的代谢调节因子,在早期胚胎发育过程中大量表达于细胞增殖迅速的部位(尤其是神经系统).在成体中

显示 *ACBP5* 的表达丧失了脑特异性,在各个组织普遍表达,起到维持细胞正常生理功能的作用.而代谢较为旺盛的组织中表达量较高.不同物种间表达部位的类似性说明该基因在遗传上可能比较保守,因此我们有理由推测该基因在人体中的表达有可能是在胚胎时期于脑中特异性表达,而在成体中表达普遍.但是具体的细节还有待进一步的研究.

参考文献 (References)

- Andersen K V, Poulsen F M. Three-dimensional structure in solution of acyl-coenzyme A binding protein from bovine liver. *J Mol Biol*, 1992, 226 (4) : 1131 ~ 1141
- Cavagnari B M, Milikowski D, Haller J F, Zaneck M C, Santome J A, Emacora M R. Optical characterization of armadillo acyl-CoA binding protein. *Int J Biol Macromol*, 2002, 31 (1-3) : 19 ~ 27
- Li H Y, Chye M L. Membrane localization of arabidopsis acyl-CoA binding protein *ACBP2*. *Plant Mol Biol*, 2003, 51 (4) : 483 ~ 492
- Ugale R R, Hirani K, Morelli M, Chopde C T. Role of adipocyte lipid-binding protein (ALBP) and acyl-coA binding protein (ACBP) in PPAR-mediated transactivation. *Mol Cell Biochem*, 2002, 239 (1-2) : 157 ~ 164
- Petrescu A D, Payne H R, Boedecker A, Chao H, Hertz R, Bar-Tana J, Schroeder F, Kier A B. Physical and functional interaction of acyl-CoA binding protein (ACBP) with hepatocyte nuclear factor-4alpha (HNF-4alpha). *J Biol Chem*, 2003, 278 (51) : 51813 ~ 51824
- Faergeman N J, Knudsen J. Acyl-CoA binding protein is an essential protein in mammalian cell lines. *Biochem J*, 2002, 368 (Pt 3) : 679 ~ 682
- Marquardt H, Todaro G J, Shoyab M. Complete amino acid sequences of bovine and human endozepines. Homology with rat diazepam binding inhibitor. *J Biol Chem*, 1986, 261 (21) : 9727 ~ 9731
- Wilkinson D G. *In situ* hybridization. In: Stern C D, Holland P W H eds. *Essential Development Biology: A Practical Approach*. Oxford: IRL Press, 1993: 257 ~ 274
- Chen W, Liang Y, Deng W, Shimizu K, Ashique A M, Li E, Li Y P. The zinc-finger protein, CNBP, is required for forebrain development. *Development*, 2003, 130 : 1367 ~ 1379
- Shimizu K, Chen W, Liang Y, Shimizu K, Deng W, Li Y P.

- Characterization of CNBP Gene, the Gene Promoter and the Gene Expression. *Gene*, 2003, **306**:1127 ~ 1135
- 11 俞慧珠,叶百宽主编. 小白鼠胚胎发生. 北京:科学出版社,1985 (Yu Hui-zhu, Ye Bai-kuan ed. *Embryonic Development on Mice*. Beijing: Science Press)
- 12 马百坤,徐东刚,王嘉玺,彭善云,李莉,王利红,邹民吉. 血管生成素与绿色荧光蛋白融合基因的构建、表达及生物活性. 中国生物化学与分子生物学报 (Ma Bai-Kun, Xu Dong-Gang, Wang Jia-Xi, Pen Shan-Yun, Li Li, Wang Li-Hong, Zou Min-Ji. Construction and expression of human angiogenin/Gfp fusion gene and its biological function. *Chin J Biochem Mol Biol*), 2002, **18**(4):445 ~ 449
- 13 李贤慧,陈桂英,奚贺荣,张庆鹏,赵国发,牛云彤,李积胜. 具有 NGF 活性通过二硫键连接的 2 个小分子多肽的制备及鉴定. 中国生物化学与分子生物学报 (Li Xian-Hui, Chen Gui-Ying, Dou He-Rong, Zhang Qing-Peng, Zhao Guo-Fa, Niu Yun-Tong, Li Ji-Sheng. Preparation and characterization of two oligopeptides linked by a disulfide bridge with nerve growth promoting activity. *Chin J Biochem Mol Biol*), 2002, **18**(4):129 ~ 133

著名生物化学家蔡良琬教授逝世

著名生物化学家,中国医学科学院基础医学研究所、中国协和医科大学基础医学研究院教授蔡良琬因病医治无效,于 2004 年 12 月 28 日在北京逝世,享年 83 岁。

蔡良琬教授,女,汉族,湖南常德人,1922 年 11 月 15 日出生,1949 年 8 月参加革命,1953 年 6 月加入九三学社,1956 年 4 月加入中国共产党,博士生导师,享受国家特殊贡献津贴,蔡良琬教授曾任中国生物化学学会北京分会副理事长,生物化学杂志(现中国生物化学与分子生物学报)副主编。

蔡良琬教授在近 60 年的科研与教学生涯中,几十年如一日,勤勤恳恳,任劳任怨,一直从事与医学基础研究有关的生物化学与分子生物学科研究与教学工作。特别是在核酸的研究中取得了卓著的成绩,她所开展的乙肝疫苗“六五”国家攻关项目,获得国家项目完成奖证书,并获得 1987 年卫生部科学技术进步奖。

1984 年,蔡良琬教授开始进行外源基因在不同宿主细胞表达的研究工作,特别是在酵母表达体系的研究,其中表皮生长因子的分泌性酵母表达体系的成功建立获得了中国医学科学院科技进步一等奖。2000 年,重组人表皮生长因子滴眼液获国家药品监督管理局颁发的 Ⅲ 类新药证书,2001 年获北京市科学技术进步二等奖。2002 年重组人表皮生长因子凝胶获得国家药品监督管理局颁发的 Ⅲ 类新药证书。1987 年,蔡良琬教授组织有关专家编写了《核酸研究技术》上下册,获 1996 年卫生部科技进步二等奖。1989 年主编《基因工程技术在基础与临床医学中的应用》和《基因分子生物学》,两书获得了广大从事基础医学研究和临床医学工作者的赞誉。

沉痛悼念蔡良琬教授逝世,我们要学习她热爱党,热爱祖国,关心集体,忘我工作的精神和优秀品质。

蔡良琬教授安息吧!

中国生物化学与分子生物学报

2005 年 3 月 10 日