

研究简报

不同培养体系对绵羊类胚胎干细胞分离、传代的影响

白昌明¹, 刘丑生², 王志刚², 王新庄³

1. 西北农林科技大学动物医学院, 杨凌 712100
2. 农业部全国畜牧总站畜禽牧草种质资源保存利用中心, 北京 100094
3. 河南农业大学牧医工程学院, 郑州 450002

摘要: 以小鼠胚胎成纤维细胞(MEF)为饲养层, 研究了用 Knockout 血清替代品(Knockout serum replacement, KSR)代替胚胎干细胞(Embryonic stem cells, ES cell)培养液中的胎牛血清(FBS)和向含 KSR 的基础培养液中添加 40% 的小鼠 ES 细胞条件培养液(ES cell conditioned medium, ESCCM)对绵羊类 ES 细胞分离、克隆效率的影响。发现使用含 FBS 的基础培养液最多可以把绵羊类 ES 细胞传至 3 代, 而使用 KSR 和添加 ESCCM 能促进绵羊类 ES 细胞的分离和克隆, 所获得的类 ES 细胞分别可稳定传至第 5 和 8 代。同时对类 ES 细胞进行核型分析、AKP 染色及体外分化能力检测, 证实所分离的类 ES 细胞符合 ES 细胞的主要特征。由此认为, 与 FBS 相比 KSR 更加适于绵羊类 ES 细胞的分离与培养; 而小鼠 ES 细胞在生长过程中可能分泌某些重要的细胞因子, 从而达到促进绵羊 ES 细胞增值的作用。

关键词: 绵羊类 ES 细胞, 小鼠 ES 细胞条件培养基, knockout 血清替代品, 自我更新

Effects of different Culture System of Isolating and Passage of Sheep Embryonic Stem-like Cells

Changming Bai¹, Chousheng Liu², Zhigang Wang², and Xin Zhuang Wang³

¹ Animal Medical College, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, China

² The Center of Preservation and Utilization of Germplasm Resources of Domestic Animals and Forage; National Animal Husbandry Service, Beijing 100094, China

³ College of Husbandry and Animal Medicine Engineering, Henan Agriculture University, Zhengzhou 450002, China

Abstract: In this research, we use mouse embryonic fibroblasts as feeder layers. To eliminate the influence of serum and mouse embryonic stem cells(ESCs) conditioned medium(ESCCM) on self-renewal of sheep embryonic stem-like cells, knockout serum replacement(KSR) was used to replace serum, then supplanted with ESCCM for the isolation and cloning of sheep embryonic stem-like cells. We found when inner cell masses(ICMs) cultured in the control group with medium supplanted with fetal bovine serum(FBS), sheep ES-like cells could not survive for more than 3 passages. However, sheep embryonic stem-like cells could remain undifferentiated for 5 passages when cultured in the medium that FBS was substituted by KSR. The result indicates that KSR culture system was more suitable for the isolation and cloning of sheep embryonic stem-like cells compared to FBS culture system. Finally we applied medium with 15% KSR as basic medium supplanted with 40% ESCCM as a new culture system to isolate sheep embryonic stem-like cells, we found one embryonic stem-like cell line still maintained undifferentiating for 8 passages, which

Received: October 29, 2007; **Accepted:** January 16, 2008

Supported by: Project of Agriculture for Preservation of Germplasm Resources of Domestic Animals and Forage (No. [2007] 43) and Project of Forage Germplasm Resources (No. 2007DKA21101).

Corresponding author: Chousheng Liu. Tel: +86-10-62814021-203; Fax: +86-10-62894803; E-mail: liuchousheng@sina.com

农业部畜禽牧草品种资源保护项目(No. 农财发[2007]43号), 科技部《畜禽种质资源 2007DKA21101》(No. 2007DKA21101)资助。

characterized with a normal and stable karyotype and high expression of alkaline phosphatase. These results suggest that it is suitable to culture sheep ICM in the new culture system with 15% KSR as basic medium and supplanted with 40% ESCCM, which indicated that mouse ES cells might secrete factors playing important roles in promoting sheep ES-like cells' self-renewal.

Keywords: sheep, embryonic stem-like cell, mouse embryonic stem cells (ESCs) conditioned medium, knockout serum replacement, self-renewal

自从 1981 年首次从小鼠胚胎中分离出 ES 细胞以来, 研究人员又分别从包括人类^[1]在内的多种哺乳动物中分离到 ES 细胞系, 但仍有一些问题困扰着 ES 细胞研究, 其中一个主要问题就是 ES 细胞建系效率偏低的问题, 即使是目前研究较多和被广泛采用的 129 系小鼠的 ES 细胞建系效率也只有不到 30%, 其它种系小鼠的建系效率只有 10% 左右^[2]。目前认为造成这一现象的主要原因是维持 ES 细胞全能性及增值的分子机制还没有研究清楚^[2], 以及血清中的不明因子对 ES 细胞的影响, 以至于不同 ES 细胞系要有特定批次的血清来维持才能稳定传代。而 KSR 作为一种人工合成产品, 因其成份明确, 质量易于控制, 从而可避免试验前对血清的筛选, 而且不少研究都报道使用 KSR 可以促进多种动物 ES 细胞的建系成功率^[4-7], 但 KSR 对绵羊类 ES 细胞分离培养的影响一直没有报道。

ES 细胞研究早期, 一般采用条件培养基来培养 ES 细胞。例如: Martin (1981) 等用培养过畸胎瘤细胞的培养液配置的条件培养基首次成功地分离出了 ES 细胞^[8]。之后, 布法罗大鼠肝细胞和大鼠心肌细胞条件培养基也被用于 ES 细胞的分离和建系工作^[9,10]。这可能主要是由于条件培养基里含有多种细胞因子, 从而能较好地维持 ES 细胞的自我更新和增值。但这些研究仅仅从外源性分泌因子角度来研究 ES 细胞增值和多能性维持, 而忽视了 ES 细胞通过自分泌和旁分泌方式产生的细胞因子在 ES 细胞增值和多能性维持方面的潜在作用^[7,11]。正是基于这一点, 我们希望能通过使用这些含有自分泌和旁分泌因子的小鼠 ES 细胞条件培养基, 达到提高 ES 细胞分离、克隆和建系效率的目的。

1 材料与方法

1.1 绵羊胚胎的收集与培养

胚胎供体为健康的 3~4 岁小尾寒羊, 采用 4 d 8 次递减注射促卵泡素 (FSH) 法进行超数排卵处理,

经处理的母羊发情后进行人工授精, 分别于授精后第 5.5 天和第 6 天经外科手术法用含 5% 的新生牛血清的 PBS 冲胚液冲取胚胎, 将收集到的胚胎用 PBS 液清洗 3~4 次后装管, 然后迅速带到实验室, 于已制备好的饲养层上培养。

1.2 饲养层细胞的制备

KM 小鼠取自中国科学院遗传与发育研究所实验动物中心, 原代小鼠胚胎成纤维细胞 (MEF) 取自怀孕 13~14 d 的孕鼠。培养基为含 15% 胎牛血清 (Gibco) 的 DMEM/F-12, 另添加 2 mmol/L L-谷氨酰胺 (Sigma), 100 IU/mL 青霉素+100 IU/mL 链霉素。在 37°C, 5% CO₂ 条件下培养, 取对数生长期的 MEF, 加入含 5 µg/mL 丝裂霉素 C 溶液 (Mitomycin-C, Sigma) 的 DMEM/F-12 液 (含 15% 胎牛血清) 处理 2~3 h, 倒出丝裂霉素 C 溶液, DPBS (Gibco) 洗涤 4~6 次, 用 0.25% 胰酶-0.02% EDTA 消化细胞, 以 3×10⁶ 个/mL 密度接种于经 0.1% 明胶 (Gelatin, Sigma) 水溶液处理的 4 孔培养皿 (NUNC) 上, 每孔接种 0.6 mL 细胞悬液。用前 2 h 更换为 ES 细胞培养液或 ESCCM^[12]。

1.3 小鼠 ES 细胞条件培养基制备

取怀孕 3~4 d 小鼠, 常规方法冲取胚胎接种到新制 MEF 饲养层上, 37°C 5% CO₂, 饱和湿度培养^[17], ES 细胞基础培养液为含 15% KSR (Gibco) 的 knockout DMEM/F-12 (Gibco), 另添加 2 mmol/L 谷氨酰胺 (Sigma), 100 IU/mL 青霉素+100 IU/mL 链霉素, 0.1 mmol/L β-巯基乙醇, 1000 IU/mL LIF (Sigma) 和 10 ng/mL bFGF。以 1:2 比例传代培养。以后每 48 h 收集培养液 1 次, 1000 r/min 离心 5 min, 收集上清液, 0.2 µm 孔径滤器过滤, 冻存^[13]。

1.4 绵羊内细胞团的分离、传代

胚胎接种于培养基 A (含 40% ESCCM 的 ES 细胞条件培养液) 或 B (ES 细胞基础培养液) 中培养 7~9 d, 待内细胞团 (ICM) 充分长大, 出现卵圆柱状或岛状形态时, 对其进行分离。在体视显微镜下 (40×), 用拉制的巴氏管将 ICM 从下层的滋养层细

胞切割下来,转入 PBS 液滴中洗涤 2 次,再转入上层覆盖石蜡油的 Tryple 消化液(Gibco)滴中,在 CO₂ 培养箱中作用 5 min 左右。用另一支口径小于 ICM 细胞团的巴氏管吸入含血清培养液,轻轻将细胞团离散为细胞小团块。将离散后的微滴内容物转入一个新制饲养层 4 孔培养板内继续培养,每日观察,每 2 d 更换培养液 1 次。经 4~6 d 培养的一类 ES 细胞集落,待其边缘开始出现细胞分化时进行传代,记为 F1,依次类推^[14,15]。同时,用含普通 FBS 的培养液 C 作为试验对照组。

1.5 碱性磷酸酶染色

对得到的 ES 细胞进行碱性磷酸酶染色鉴定,按试剂盒(南京建成生物工程研究所)提供的方案进行操作。

1.6 核型分析

取处于旺盛生长期的类 ES 细胞,消化、离心,用细胞培养液制成悬液,接种于培养皿中,移入培养箱培养 20~72 h。吸出培养液,用含 0.2 µg/mL 秋水仙素的培养液继续培养 3~4 h。消化离心后,用 0.075 mol/L KCl (Sigma)在 38.5°C 低渗处理 30 min。而后用新鲜配置的固定液(甲醇:冰醋酸按 3:1)固定后以适当的距离滴片。最后用 5%吉姆萨染色液室温下作用 10 min,自来水冲洗载玻片背面。在 1000× 油镜下观察染色体的分布情况^[16,17]。

1.7 体外分化能力鉴定

将 ES 细胞消化成小细胞团或单个细胞后,接种于铺有 10 g/L 低熔点琼脂糖的 60 mm 培养皿上,悬浮培养,培养液含有 15%胎牛血清和 2 mmol/L-谷氨酰胺(Sigma),100 IU/mL 青霉素+100 IU/mL 链霉素的 knockout DMEM/F-12,每 2 天换液 1 次,取 5 d 左右形成的类胚体,接种于 0.1%明胶铺被的 4 孔培

养皿内,观察分化细胞的产生情况^[7,17]。

2 试验设计

试验一:研究 KSR 对绵羊类 ES 细胞分离、克隆的影响,取超排后人工授精的小尾寒羊早期胚胎,以使用含相同体积分数的特级胎牛血清为对照组。

试验二:研究添加 ESCCM 对绵羊类 ES 细胞分离、克隆的影响。

3 结果与分析

3.1 绵羊类 ES 细胞的分离与培养

本次试验共从 20 只小尾寒羊中采集到可用胚 38 枚。把收集到的绵羊胚胎接种到制备好的饲养层上,大约 48 h 后囊胚开始脱带(图 1),随后脱去透明带后部分囊胚贴壁,囊胚外层的滋养层细胞长出,并且接种于培养液 A 中的 14 个囊胚中有 12 个贴壁在饲养层细胞上,同时内细胞团(ICM)开始生长增值(图 2)。ICM 贴壁生长后,可见形成山丘状的干细胞集落,集落中的干细胞小而密,界限不清,但是与周围的滋养层细胞界线清晰。AKP 染色后,ICM 表现出强阳性。ICM 集落越大、立体感越强,在随后的传代过程中越容易成功,相反,那些干细胞集落呈现扁平状的 ICM,通常会在随后的培养过程中发生分化,难以传代。

接种于培养液 B 中的 12 枚胚胎,有 9 枚胚胎脱带并贴壁生长。但是在随后的传代中,仅有一个传到第 5 代,而且很快便分化了。在对照试验组中,接种于培养液 C 上的 13 枚胚胎中有 10 枚脱带并贴壁生长,最多仅传至第 3 代(表 1)。

表 1 绵羊类胚胎干细胞在不同培养体系中的生长、传代情况
Table 1 Passages of sheep ES-like cells cultured in different culture systems

Medium	No. of embryos	No. of attached ICM	The passages of the ES-like cells								
			0	1	2	3	4	5	6	7	8
A	14	78.5% (12/14)	12	9	8	7	5	2	2	2	2
B	12	75.0% (9/12)	9	7	4	4	2	1			
C	13	76.9% (10/13)	10	6	5	2					



图 1 正在脱带的囊胚
Fig. 1 Hatching blastocyst



图 2 贴壁生长的 ICM
Fig. 2 Adhesion of ICM to flask

3.2 AKP 染色

未分化的类 ES 细胞经碱性磷酸酶(AKP)染色为棕红色,饲养层细胞和分化的细胞不着色(图 3)。

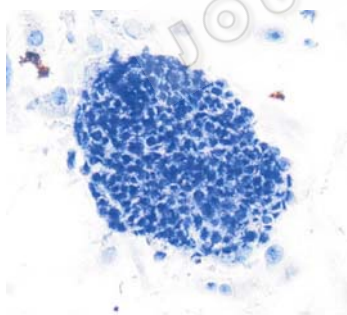


图 3 AKP 染色
Fig. 3 Positive staining for AKP

3.3 核型分析

将传至7代的绵羊类ES细胞集落进行染色体分析,结果表明,76% (26/34)能维持正常的二倍体核型(图 4)。

3.4 体外分化能力

将典型 ES 细胞集落细胞消化为小团块,培养在铺有 10 g/L 低熔点琼脂糖培养皿中,细胞集落可以自发地相互聚集,5 d 后有球形 EB 形成(图 5)。



图 4 正常的二倍体核型
Fig. 4 Normal karyotype of ES-like cells

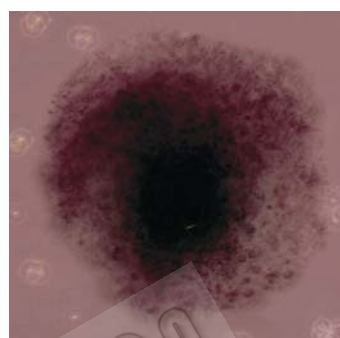


图 5 类胚体
Fig. 5 Embryoid body

4 讨论

从试验结果中可以看出, KSR 和 40% ESCCM 条件培养液都可以促进绵羊类 ES 细胞的分离、克隆,并且传代后的类 ES 细胞仍然很好地保持了其多能性和稳定核型。

在 ES 细胞建系过程中,促进 ES 细胞分裂增殖和抑制其分化是 ES 细胞培养过程中需要解决的两个主要问题。而血清在这个过程中是不可或缺的,因为血清中含有多种生长因子、激素、粘附因子等多种维持细胞增殖的必须成分,另外还含有能解除脂肪酸、重金属和某些蛋白酶毒性作用的成分。但是在 ES 细胞培养过程中使用血清可能会引起 ES 细胞的分化,这是因为血清中成分不明的因子刺激产生的。大部分实验室的解决办法是向血清生产商家索取少量不同批次的血清,经过试验后找到对 ES 细胞生长最有利的批次,然后大量购买该批次的血清,储存于 -80°C 的冰箱内,供长期使用。然而,这样不仅占用大量科研经费,而且不同存放时期的血清的效力也不同,造成试验统一性差。KSR 是人工合成品,没有任何不确定的生长因子或分化促进因子。

从而避免了试验前对血清的筛选工作,简化了试验操作。这一点对在体外培养明确的 ES 细胞系的质量控制也是非常有用的。在成人干细胞方面,无血清培养或人工合成血清的替代品也已经在造血干细胞、间充质细胞和神经干细胞的培养中的应用研究也正在进行中。本试验中我们利用 KSR 代替胎牛血清用于 ES 细胞的培养,结果最高传至第 5 代,与对照组(传至 3 代)中使用 FBS 相比,使用 KSR 能促进 ES 细胞的增值和自我更新特性的维持。

试验还表明 KSR 联合小鼠 ESCCM 条件培养液共同使用时,对绵羊 ES 细胞的分离和克隆的促进作用最大,这可能主要是由于小鼠 ES 细胞分泌产生多种细胞因子的原因。之前的研究表明 LIF、OCT-4 和 nanog 等细胞因子在小鼠 ES 细胞的全能性维持以及增值中起到了关键性的作用^[3]。其中 LIF 通过 gp130 受体激活 Jak/STAT 信号通路来完成促进 ES 细胞增值的作用^[18]。在 3 组试验中,都添加了等量的 LIF,然而使用含有 ESCCM 培养基的试验组中类 ES 细胞最高传至 8 代,而不含 ESCCM 的试验组中类 ES 细胞最高传至 5 代和 3 代。这一点说明除 LIF 之外还有其他未知的细胞因子参与了 ES 细胞的全能性维持及增值过程。Oct-4 属于 POU 转录因子家族的一员,能通过多种多样的调控机制激活或抑制不同靶基因的转录^[19]。Oct-4 基因敲除的小鼠只能发育到类似囊胚的阶段,然而该囊胚 ICM 中的细胞不具有发育全能性,只能形成滋养外胚层。还发现 ES 细胞自身也能分泌 Oct-4,并在维持干细胞全能性方面起着重要作用^[20]。近年来,利用数据库表达差异筛选和 cDNA 库功能差异筛选还发现 Nanog 也是维持 ES 细胞全能性的又一重要转录因子。随后,Chambers 和 Mitsui 的研究证明 Nanog 是独立于 LIF/gp130 之外的另外一个途径。可能 ESCCM 中含有的某些因子正是通过调节 Oct-4 的表达对 ES 细胞其中用。因此还需要做进一步的研究来探究究竟是那种因子在这个过程中起作用。尽管利用该方法把绵羊类 ES 细胞传至 8 代,并保持未分化状态,但是在随后的传代过程中,发现大部分类 ES 细胞开始逐渐分化。这说明小鼠 ESCCM 条件培养液还不能完全阻止绵羊类 ES 细胞的未分化状态。这可能因为绵羊类 ES 细胞的全能性维持还与绵羊类 ES 细胞之间的相互作用有关的原因,而在类 ES 细胞传代过程中

又必须把干细胞团消化为单细胞,否则得到的干细胞团很容易分化。这一矛盾关系可能也是绵羊 ES 细胞不能稳定建系的一个原因。

5 小结与展望

综合以上结果,可以得出使用 KSR 不仅可以简化在 ES 细胞培养过程中筛选血清的过程,而且能促进绵羊类 ES 细胞的分离和克隆。而在 ES 细胞自我更新维持以及增值过程中除了之前了解较多的 LIF 介导的 Jak/STAT 信号通路之外,还有其他细胞因子的参与甚至还存在其他的信号通路的作用。具体是哪些因子以及信号通路在这一过程中起了决定性的作用还需要进一步的试验验证。同时,通过试验优化了绵羊类 ES 细胞培养系统,为以后的绵羊 ES 细胞建系奠定了基础。

致谢 感谢赵俊金、孟飞、徐海涛、左军为本试验绵羊胚胎的冲取和试剂、耗材采购过程中提供诸多帮助。

REFERENCES

- [1] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, *et al.* Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*, 1998, **282**(5391): 1145-1147.
- [2] McWhir J, Schnieke AE, Ansell R, *et al.* Selective ablation of differentiated cells permits isolation of embryonic stem cell lines from murine embryos with a non-permissive genetic background. *Nature Genetics*, 1996, **14**(2): 223-226.
- [3] Niwa H. Molecular mechanism to maintain stem cell renewal of ES cells. *Cell Struct Funct*, 2001, **26**(3): 137-148.
- [4] Amit M, Shariki C, Margulets V, *et al.* Feeder layer and serum-free culture of human embryonic stem cells. *Biology of Reproduction*, 2004, **70**(3): 837-845.
- [5] Bryja V, Bonilla S, Cajánek L, *et al.* An efficient method for the derivation of mouse embryonic stem cells. *Stem Cells*, 2006, **24**(4): 844-849.
- [6] Peng HM, Chen GA. Serum-free medium cultivation to improve efficacy in establishment of human embryonic stem cell lines. *Human Reproduction*, 2006, **21**(1): 217-222.
- [7] Tian HB, Wang H, Sha HY, *et al.* Factors derived from mouse embryonic stem cells promotes self-renewal of goat embryonic stem-like cells. *Cell Biology International*, 2006, **30**(5): 452-458.
- [8] Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proceedings of National*

- Academy of Sciences*, 1981, **78**(12): 7634–7638.
- [9] Guo ZL, Wang YZ, Wang M. Factors affecting on isolation, clone and passages of embryonic stem cells of Kunmingbai/str. Mice and BALB/c/str. Mice. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2006, **26**(4): 448–450.
郭志林, 王新庄, 王木. 影响昆明小鼠和 BALB/c 小鼠 ES 细胞分离、克隆、传代的若干因素. *中国兽医学报*, 2006, **26**(4): 448–450.
- [10] Smith TA, Hooper ML. Medium conditioned by feeder cells inhibits the differentiation of embryonal carcinoma cultures. *Experimental Cell Research*, 1983, **145**(2): 458–462.
- [11] Nichols J, Zevnik B, Anastassiadis K, *et al.* Formation of pluripotent stem cells in the mammalian embryo depends on the POU transcription factor Oct4. *Cell*, 1998, **95** (3): 379–391.
- [12] Lai LX. Isolation and cultivation of embryonic stem cells of rabbit. Northeast Agricultural University, 1995.
赖良学. 家兔胚胎干细胞的分离培养. 东北农业大学动物科技学院, 1995.
- [13] Li JX, Wang XZ, Li QW. Isolation and culture of embryonic germ cells from Kunming albinotic strain mouse. *Chinese Journal of Veterinary Science and Technology*, 2005, **35**(10): 790–793.
李吉霞, 王新庄, 李权武. 昆明白小鼠胚胎生殖细胞的分离与培养. *中国兽医科技*, 2005, **35**(10): 790–793.
- [14] Cao HG, Zhang Y. Nuclear transfer of Murine and isolation of embryonic germ cells. *Progress in Natural Science*, 2005, **15**(4): 481–485.
曹鸿国, 张涌. 小鼠体细胞核移植及 ES 细胞样集落分离. *自然科学进展*, 2005, **15**(4): 481–485.
- [15] Meng GL, Tang FT, Shang KG. Comparison of the method establishing embryonic stem cell lines from five different mouse strains. *Journal of Genetics and Genomics*, 2003, **30**(10): 933–942.
孟国良, 汤富酬, 尚克刚, 等. 5 个品系小鼠胚胎干细胞系建立的方法学比较. *遗传学报*, 2003, **30**(10): 933–942.
- [16] Lu HN, Liu CS, Wang ZG. The establishment of fibroblast cell line and its biological characteristic research in guide black fur sheep. *China Herbivores*, 2007, **27**(2): 3–6.
陆会宁, 刘丑生, 王志刚. 贵德黑裘皮羊耳成纤维细胞系的建立和生物学特性的研究. *中国草食动物*, 2007, **27**(2): 3–6.
- [17] Wang H, Tian HB, Chen J. Knockout serum replacement improves establishment efficiency of C57BL/6J mouse embryonic stem cell line. *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 2007, **23**(3): 269–272.
王宏, 田海滨, 陈娟. Knockout 血清替代品可提高 C57BL/6J 小鼠胚胎干细胞建系效率. *细胞与分子免疫学杂志*, 2007, **23**(3): 269–272.
- [18] Raz R, Lee CK, Cannizzaro LA, *et al.* Essential role of STAT3 for embryonic stem cell pluripotency. *Proceedings of National Academy of Science*, 1999, **96**(6): 2846–2851.
- [19] Pesce M, Scholer HR. Oct-4: gatekeeper in the beginnings of mammalian development. *Stem Cells*, 2001, **19**(4): 271–278.
- [20] Niwa H, Miyazaki J, Smith AG. Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells. *Nature Genetics*, 2000, **24**(4): 372–376.
- [21] Chambers I, Colby D, Robertson M, *et al.* Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells. *Cell*, 2003, **113**(5): 643–655.
- [22] Mitsui K, Tokuzawa Y, Itoh H, *et al.* The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell*, 2003, **113**(5): 631–642.

第 13 届国际生物技术大会暨展览会即将在大连举行

始于 1960 年, 每四年举办一届、各大洲轮流举办并首次登陆中国的第 13 届国际生物技术大会暨展览会(IFS-2008)将于 2008 年 10 月 13 日在大连举行。(IFS-2008)是生物技术领域公认的规模最大、学术水平最高、社会影响最强的国际盛会, 堪称是生物技术领域的奥林匹克大会。本次大会邀请生物技术领域取得突出成就而享誉全球的一百五十多位科学家做学术报告, 包括 3 位诺贝尔奖获得者, 数十位各国科学院和工程院院士及多位国际上著名的生物技术公司 CEO 和的研发部门 CTO 等。更多详情请登录: <http://cn.ifs2008.org/exhibition.html>。