

鸡卵清蛋白基因第一内含子和 3'-调控区对外源基因表达的调控作用

房浩霞, 王安平, 高波, 孙怀昌

扬州大学兽医学院, 扬州, 江苏 225009

摘要: 探明鸡卵清蛋白基因(*ov*)第一内含子和 3'-调控区对目的基因表达水平的影响, 为鸡输卵管表达载体的构建提供科学依据。用牛生长激素基因(BGH)poly A 序列替换鸡输卵管表达载体中 *ov* 3'-调控区, 用限制酶消化法逐步删减第一内含子序列, 获得 5 个表达人组织激肽释放(hK1)cDNA 的鸡输卵管表达载体, 分别命名为 pOV2K、pOV3K、pOV4K、pOV5K 和 pOV6K。经翅静脉给产蛋鸡注射聚乙烯亚胺包裹的相同拷贝数重组载体, 通过蛋清中酶活性定量检测评价不同载体的表达水平。结果表明: 受控于 3.0kb *ov* 5'-和 3'-调控区的 pOV2K 表达的重组酶活性明显高于用 BGH poly A 替换 3'-调控区的 pOV3K; 无内含子的 pOV6K 表达水平显著低于含不同长度第一内含子的 pOV3K、pOV4K 和 pOV5K, 重组酶表达水平随第一内含子的缩短呈逐渐下降趋势。该试验结果表明 *ov* 第一内含子和 3'-调控区对目的基因在鸡输卵管细胞中的表达具有正调节作用, 应当包括在鸡输卵管表达载体中。

关键词: 鸡卵清蛋白基因, 调控区, 输卵管表达载体, 人组织激肽释放酶

The Regulatory Effect of the First Intron and 3'-Regulatory Region of Ovalbumin Gene on Transgene Expression

Haoxia Fang, Anping Wang, Bo Gao, and Huaichang Sun

College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China

Abstract: We studied the influence of the first intron and 3'-regulatory region of ovalbumin gene (*ov*) on oviduct-specific transgene expression. The 3'-regulatory region in the oviduct-specific expression vector containing human tissue kallikrein (hK1) cDNA was replaced with bovine growth hormone (BGH) poly A, and the first intron was deleted by restriction enzyme digestion, resulting in five new vectors pOV2K, pOV3K, pOV4K, pOV5K and pOV6K. After mixing with polyethylenimine, we injected same copies of the five vectors via wing vein route into laying hens and compared their expression levels by quantitative assay for enzymatic activities in the egg whites. Among the five vectors tested, the pOV2K containing both the 5'- and 3'-regulatory regions expressed highest level of rhK1 activity, followed by pOV3K with the 3'-regulatory region replaced with BGH poly A, and then by the first intron-shortened vectors pOV4K, pOV5K and pOV6K. These data suggest that both the first intron and 3'-regulatory region of *ov* gene have enhancing effect on transgene expression in oviduct cells, which should be included in oviduct-specific expression vectors.

Keywords: chicken ovalbumin gene, regulatory regions, oviduct expression vector, human tissue kallikrein

Received: July 10, 2007; **Accepted:** August 21, 2007

Supported by: the Department of Education, Jiangsu Province (No. JH01-066).

Corresponding author: Huaichang Sun. Tel: +86-514-87979335; Fax: +86-514-87972218; E-mail: sunh@yzu.edu.cn

江苏省高校高新技术产业化项目(No. JH01-066)资助。

转基因动物生物反应器是目前国际生物技术领域研究的热点和前沿。与哺乳动物相比,家禽具有繁殖周期短、产蛋率高、试验成本低等优点,其输卵管更加适合作为生产重组蛋白的生物反应器^[1]。鸡蛋清蛋白包括卵清蛋白(OV)、卵转铁蛋白、卵粘蛋白和溶菌酶等,其中 OV 占输卵管上皮细胞合成总蛋白的 55%~60%,因此 *ov* 调控序列常用于鸡输卵管表达载体的构建^[1]。

目前对于构建鸡输卵管特异表达载体所需的 *ov* 调控元件尚无明确结论。先前的研究资料显示,靠近 TATA 框的 *ov* 启动子足以驱动目的基因在输卵管管状腺细胞中特异表达,但表达水平较低^[2-5];用包括第一内含子在内的 3.0 kb 5'调控区和 3'调控区构建的鸡输卵管表达载体注射产蛋鸡,结果显示报告基因不仅能在输卵管上皮细胞中高水平、特异表达,而且表达产物能分泌到蛋清中^[6,7];用 7.5 kb 或 15 kb 5'调控区与 15.3 kb 3'调控区指导人单克隆抗体基因表达,结果 15 kb 5'调控区控制的表达水平显著高于 7.5 kb 5'调控区,但有异位表达现象^[8]。为了进一步研究 *ov* 调控序列对外源基因表达的影响,本研究在用 3.0 kb *ov* 5'和 3'调控区构建的鸡输卵管表达载体基础上,通过逐步删减 5'调控区中的第一内含子序列和用牛生长激素基因(BGH)poly A 替换 3'调控区,经产蛋鸡体内表达试验证明第一内含子和 3'调控区对外源基因表达具有正调节作用,应将其包括在鸡输卵管特异表达载体中。

1 材料与方法

1.1 工具酶及主要试剂

大肠杆菌(*E. coli*)DH5 α 感受态细胞由本实验室按常规方法制备和保存;PCR 引物由上海生工生物工程公司合成;Pyrobest DNA Polymerase、限制性内切酶、T4 DNA 连接酶和 pMD18-T PCR 产物克隆载体为大连宝生物工程公司产品;25 kD 聚乙烯亚胺(polyethylenimine, PEI)购自 Sigma 公司;Wizard DNA Clean-Up System 为 Promega 公司产品;BAEE 购自上海伯奥生物科技有限公司;其它试剂均为 AR 级。

1.2 实验动物

处于产蛋高峰期的蛋肉兼用型同群扬州鸡由扬州大学动物科学与技术学院实验鸡场提供。

1.3 鸡输卵管表达载体 pOV2K 的构建与鉴定

输卵管表达载体 pOV1 的构建见文献^[6]。根据

真核表达载体 pcDNA3 的限制性酶切图谱,用限制酶 *Pvu* II 切除其中的 neo 表达盒,载体自连后获得改造质粒 pcDNA3.2。用限制酶 *Sal* I 和 *Not* I 将 pOV1 中的 3.0 kb *ov* 5'和 3'调控区切出,克隆入同酶切除 CMV 启动子的 pcDNA3.2 中,获得鸡输卵管表达载体 pOV2。将人组织激肽释放酶(human kallikrein, hK1)cDNA^[9]插入 pOV2 的 *Xho* I 位点,获得的重组载体 pOV2K 用限制酶 *Sal* I 消化法鉴定其大小,以 OV 5'调控区正向和 hK1 cDNA 反向 PCR 引物鉴定 cDNA 插入方向。

1.4 鸡输卵管表达载体 pOV4K 的构建与鉴定

以 3.0 kb *ov* 5'调控区和 BGH polyA 指导 hK1 cDNA 表达的鸡输卵管表达载体 pOV3K 见文献^[10]。根据其限制性酶切图谱,用限制酶 *Eco*R I 切除 *ov*(GI:212504)1731~2680 bp 区域,经凝胶电泳分离后,用 Wizard DNA Clean-up System 回收约 5.0 kb 大片段,用连接酶自连后转化大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞,获得的重组载体 pOV4K 用限制酶 *Eco*R I 消化法鉴定。

1.5 鸡输卵管表达载体 pOV5K 的构建与鉴定

根据 pOV3K 限制性酶切图谱,用限制酶 *Hind* III 和 *Hpa* I 切除 *ov* 1568~2860 bp 区域,经琼脂糖凝胶电泳分离后,用 Wizard DNA Clean-up System 回收约 4.7 kb 大片段,经 Klenow 片段补平后连接,转化大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞,获得的重组质粒 pOV5K 用限制酶 *Sal* I 消化法鉴定。

1.6 鸡输卵管表达载体 pOV6K 的构建与鉴定

为了克隆不包括第一内含子的 1.1 kb 5'调控区,根据对应于 *ov* 296~313 bp 和 1373~1389 bp 序列设计一对 PCR 引物,序列分别为 5'-TGCGTCGACTGG CACTGACTAACTTC-3'和 5'-TTACTCGAGCTTT CGAGCTTGACTGC-3',下划线为引入的 *Sal* I 和 *Xho* I 酶切位点。50 μ L 的 PCR 反应体系包括:5 μ L 10 \times 缓冲液,10 pmol/L dNTPs,10 pmol/L 正、反向引物,1 μ L pOV3K 模板,1 u Pyrobest DNA Polymerase;30 次循环的 PCR 反应程序为:94 $^{\circ}$ C/45 s(第一循环为 5 min),60 $^{\circ}$ C /45 s,72 $^{\circ}$ C /70 s(最后一次循环为 10 min)。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳分离后,用 Wizard DNA Clean-Up System 回收,末端加“A”尾^[4]后插入 pMD18-T 质粒。用限制酶 *Sal* I 和 *Xho* I 将 1.1 kb 5'调控区从 pMD18-T 中切出,插入用同酶切去 3.0 kb 5'调控区的 pOV3K 载体,获得的重组载体 pOV6K 用限制酶 *Pvu* II、*Sal* I 和 *Xho* I 消化法鉴定。

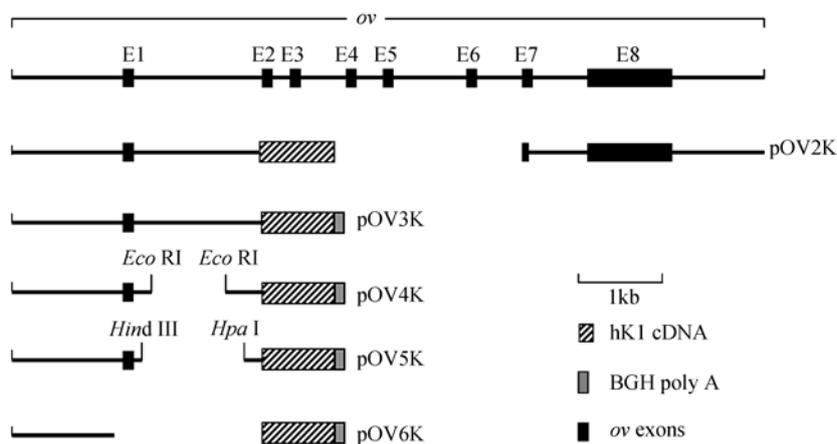


图 1 鸡输卵管表达载体中 hK1 cDNA 表达盒的结构示意图

Fig. 1 The schematic presentation of the hK1 cDNA expression cassettes in the five oviduct-specific expression vectors

1.7 质粒 DNA 的制备

将上述重组质粒转化的 DH5 α 大肠杆菌在 LB 培养液中扩大培养, 用标准的碱裂解法^[11]制备质粒 DNA, 用自行设计的方法 (专利申请号: 200510090721.7) 纯化后溶于 5% 葡萄糖溶液中, 用紫外分光光度计测定 A_{260} 和 A_{280} 值, 计算其比值为 1.80~1.85, 调整浓度为 10 mg/mL, -20 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.8 产蛋鸡的重组载体注射

根据分子量和核酸浓度计算重组质粒的拷贝数。以 1 μ g DNA/2 μ L PEI 的比例, 将纯化的重组载体与 10 mmol/L PEI 混合, 室温下孵育 15 min 后备用^[12]。将 25 只处于产蛋高峰期的蛋鸡分成 5 组, 每组 5 只, 分别为 pOV2K、pOV3K、pOV4K、pOV5K、pOV6K 注射组。以翅静脉为注射途径, 每只注射 1×10^{14} 拷贝 (分别为 0.99、0.66、0.55、0.52、0.46 mg) PEI-包裹的重组载体, 次日重复注射 1 次。

1.9 hK1 活性测定

从再次载体注射次日起收集鸡蛋, 在无菌工作台内分离浓稠蛋清, 按文献^[13]测定蛋清中的 K1 活性, 以猪胰腺激肽释放酶 pK1 为标准品, 以载体注射前同鸡蛋清为阴性对照, K1 活性用同组同日 3 枚鸡蛋清的平均值表示。

2 结果

2.1 pOV2K 的构建与鉴定

用限制酶 *Sal* I 和 *Not* I 将 pOV1 中的 3.0 kb *ov* 5' 和 3' 调控区切出, 克隆入切除 CMV 启动子的 pcDNA3.2 中, 获得鸡输卵管表达载体 pOV2。将 hK1

cDNA 插入 pOV2 中 5' 和 3' 调控区之间的 *Xho* I 位点, 获得的重组载体 pOV2K 用 *Sal* I 酶切和电泳分离后, 可见预期的约 9.0 kb 片段; 以 *ov* 5' 调控区正向引物和 hK1 cDNA 反向引物进行 PCR 扩增, 结果能扩增出预期的 3.8 kb 片段, 说明 hK1 cDNA 的插入方向正确。

2.2 pOV4K 的构建与鉴定

pOV3K 的限制性酶切图谱分析结果显示, 在对应于 *ov* 1731~2680 bp 区域内存在 3 个 *Eco*R I 酶切位点。用限制酶 *Eco*R I 消化 pOV3K, 酶切产物用琼脂糖凝胶电泳分离, 将回收的载体大片段自连, 获得的输卵管表达载体 pOV4K 用限制酶 *Eco*R I 消化后进行电泳分析, 可见预期的约 5 kb 片段, 说明 pOV4K 构建正确。

2.3 pOV5K 的构建与鉴定

pOV3K 的限制性酶切图谱分析结果显示, 在对应于 *ov* 1568~2860 bp 区域内存在 1 个 *Hind* III 和 1 个 *Hpa* I 位点。用限制酶 *Hind* III 和 *Hpa* I 酶消化 pOV3K, 电泳分离后回收载体大片段, 经末端补平后连接, 获得的输卵管表达载体 pOV5K 用限制酶 *Sal* I 消化, 琼脂糖凝胶电泳分析可见预期的约 4.7 kb 片段, 说明 pOV5K 构建正确。

2.4 pOV6K 的构建与鉴定

用对应于 *ov* 296~313 bp 和 1373~1389 bp 序列设计的 PCR 引物, 以含 3.0 kb 5' 调控区的 pOV3K 为模板, 经过 30 次循环 PCR 扩增后, 琼脂糖凝胶电泳分析可见预期的 1.1 kb 扩增产物。用限制酶 *Sal* I 和 *Xho* I 将克隆在 pMD18 中的 1.1 kb *OV* 5' 调控区切出,

替换 pOV3 中的 3.0 kb 5'调控区, 获得输卵管表达载体 pOV6。用限制酶 *Xho* I 将 hK1 cDNA 从 pOV3K 中切出, 插入 pOV6 的相应位点, 获得的重组质粒用限制酶 *Xho* I 和 *Pvu* II 消化, 琼脂糖凝胶电泳分析可见预期大小的片段, 说明 pOV6K 构建正确。

2.5 3'调控区对外源基因表达的影响

为了探索输卵管表达载体中 *ov* 基因 3'调控区对外源基因表达的影响, 用 PEI 包裹含 3.0 kb 5'和 3'调控区的 pOV2K 和 3'调控区被 BGH polyA 替换的 pOV3K, 用相同拷贝重组载体两次注射产蛋鸡, 蛋清中的 hK1 活性检测结果显示: 在载体注射后的前 2 天, 两个载体表达的酶活性无显著差异($P>0.05$); 在载体注射后的第 4 天, pOV3K 表达的酶活性 (19.44 ± 2.90 u/mL)显著高于 pOV2K (14.93 ± 3.89 u/mL, $P<0.05$); 但从载体注射后第 5 天起, pOV2K 表达的酶活性显著高于 pOV3K ($P<0.05$), 且高表达时间较长(图 2)。

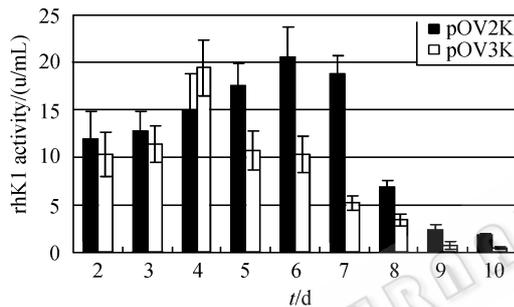


图 2 *ov* 基因 3' 调控区对外源基因在输卵管细胞中表达水平的影响

Fig. 2 The influence of the 3'-regulatory region of *ov* gene on transgene expression in oviduct cells

2.6 第一内含子对外源基因表达的影响

为了探索 *ov* 基因第一内含子在输卵管表达载体中的作用, 用限制酶消化或 PCR 扩增法逐步删减 pOV3K 中 5'调控区的内含子序列, 获得部分保留和不含内含子的输卵管表达载体 pOV4K、pOV5K 和 pOV6K。用 PEI 包裹的相同拷贝数载体注射产蛋鸡, 蛋清中酶活性检测结果显示: 从载体注射后的第 2 天起, 不含内含子的 pOV6K 表达的酶活性显著低于含完整或部分内含子的 pOV3K、pOV4K 和 pOV5K ($P<0.05$); 对于含不同长度内含子的 3 个载体而言, 重组酶表达水平随内含子的缩短呈下降趋势, 但除载体注射后第 4 天外, 其它时间的差异不显著 ($P>0.05$)(图 3)。

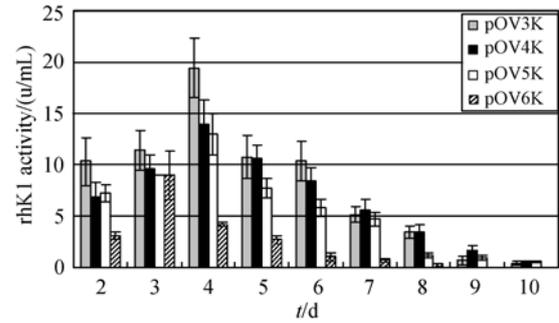


图 3 *ov* 基因第一内含子对外源基因在输卵管细胞中表达水平的影响

Fig. 3 The influence of the first intron of *ov* gene on transgene expression in oviduct cells

3 讨论

ov 基因包括 8 个外显子和 7 个内含子, 5'调控区存在 4 个激素诱导的 DNase I 高敏感位点^[14,15]。位点 I 是位于 -308~-88 bp 区域的双重调控元件 NRE, 无固醇类激素存在时表现为抑制转录, 有类固醇激素存在时则与类固醇激素依赖调控元件 SDRE 共同促进转录, 其中 -239~-220 bp 区域为转录沉默序列, -280~-252 和 -134~-88 bp 区域为潜在的输卵管特异性表达调控元件^[16]; 位点 II 是位于 -892~-780 bp 区域的 SDRE, 通过与雌激素和糖皮质激素结合启动鸡输卵管上皮细胞的基因表达^[17,18]; 位点 III 含雌激素半应答元件直接重复序列 1/2EREDR, 能增强启动子 COUP 的转录活性^[19]; 远端位点 IV 的功能尚不清楚。

除 5'调控序列外, 某些基因的 3'调控序列以及内含子对组织特异性表达及水平有不同程度影响^[20]。Palmiter 等^[21]用转基因小鼠模型进行的试验结果表明, 内含子(尤其是第一内含子)对转基因的高效表达是必需的。我们先前的研究表明, 用包括第一内含子在内的 3.0 kb *ov* 基因 5'调控区和从第 7 外显子开始的 3.0 kb 3'调控区构建的表达载体, 不仅能有效驱动 *lacZ* 报告基因和 hK1 等目的基因在鸡输卵管上皮细胞中表达, 而且表达具有良好的组织特异性和雌激素依赖性^[6,7,10], 表明这两个调控序列中包括了 *ov* 基因组织特异性表达所需的主要近端调控元件。

在制备转基因动物反应器之前, 往往需用适当的体内、外表达系统对基因构件进行验证, 以避免试验的盲目性。常用的检验系统主要有体外细胞表

达和动物体内暂态表达。前者的优点是影响因素较少和结果容易解释, 但难以真实反映动物体内基因表达的真实情况, 对于输卵管表达载体更是如此, 不仅难以模拟卵清蛋白基因体内表达所需激素的种类、水平和动态变化, 而且缺少稳定传代的细胞系, 而体外培养的原代鸡输卵管上皮细胞的基因转染效率很低^[7]; 体内暂态表达的缺点是易受动物个体差异的影响, 但能为基因构件的验证提供较真实的生理环境, 所以表达结果相对可靠。本研究将品种、日龄、体重相同试验鸡随机分组($n=5$), 每只注射相同拷贝数的重组载体, 酶活性以同组 5 只试验鸡同日所产 3 枚蛋蛋清的平均值计, 以尽量避免试验鸡个体差异和载体大小不一导致的结果误差。

产蛋鸡体内暂态表达试验结果显示, 除载体注射后第 4 天外, pOV3K 表达的酶活性显著低于 pOV2K。在结构组成上, 两者的唯一差别是 3'调控区的不同, pOV2K 的 3'调控区不仅包括 *ov* 基因转录终止信号, 还包括部分第七外显子、第七内含子和第八外显子, 而 pOV3K 仅以 BGH poly A 为终止信号。鉴于 BGH poly A 是真核细胞表达载体常用的目的基因转录终止信号, 具有向转录子 3'端加 poly A 尾功能, 因此 mRNA 稳定性可能不是导致两者表达水平差异的主要原因, 而可能与 *ov* 基因 3'调控区中 poly A 以外的调控序列有关。在整个试验期中, pOV3K 和 pOV6K 表达的酶活性存在显著差异, 鉴于两者均以 BGH poly A 为终止信号, 区别在于前者含 *ov* 第一外显子和内含子, 后者无此序列, 可能是导致两者表达水平差异的原因所在, 用含部分内含子的 pOV4K 和 pOV5K 进行的表达试验结果进一步证明这一观点。

总之, 本研究用产蛋鸡进行的体内暂态表达试验结果表明, *ov* 内含子和 3'调控区对外源基因表达具有明显的促进作用, 尽管其具体调控元件及机理有待进一步阐明, 但应将其包括在鸡输卵管高水平表达基因构件中。

REFERENCES

- [1] Lillico SG, McGrew MJ, Sherman A, Sang HM. Transgenic chickens as bioreactors for protein-based drugs. *DDT*, 2005, **10**(3): 191–196.
- [2] Sanders MM, McKnight GS. Positive and negative regulatory elements control the steroid-responsive ovalbumin promoter. *Biochemistry*, 1988, **27**: 6550–6557.
- [3] Dierich A, Gaub MP, LePennec JP, Astinotti D, Chambon P. Cell-specificity of the chicken ovalbumin and conalbumin promoters. *EMBO J*, 1987, **6**(8): 2305–2312.
- [4] Yu L, Zhao J, Zhang YL, *et al.* Construction of the expressing vector of 5' flanking regulatory regions of the chicken ovalbumin gene and its transient expression in chicken primary oviduct cell and chicken fibroblasts cell cultures. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2001, **21**(1): 21–24.
- [5] Ochiai H, Park HM, Nakamura A, Sasaki R, Okumura JI, Muramatsu T. Synthesis of human erythropoietin in vivo in the oviduct of laying hens by localized in vivo gene transfer using electroporation. *Poultry Science*, 1998, **77**: 299–302.
- [6] 高波, 宋红芹, 陈芹, 等. 鸡输卵管特异表达载体的构建及其体内表达. *中国生物工程杂志*, 2003, **23**(8): 83–86.
- [7] Gao B, Sun HC, Song CY, Wang ZY, Chen Q, Song HQ. Transfection and expression of exogenous gene in the laying hens oviduct in vitro and in vivo. *Journal of Zhejiang University Science*, 2005, **6B**(2): 1087–1091.
- [8] Zhu L, van de Lavoie MC, Albanese J, Beenhouwer DO, Cardarelli PM, Cuison S, Deng DF, Deshpande S, Diamond JH, Green L, Halk EL, Heyer BS, Kay RM, Kerchner A, Leighton PA, Mather CM, Morrison SL, Nikolov ZL, Passmore DB, Pradas-Monne A, Preston BT, Rangan VS, Shi M, Srinivasan M, White SG, Winters-Digiaccinto P, Wong S, Zhou W, Etches RJ. Production of human monoclonal antibody in eggs of chimeric chickens. *Nature Biotechnology*, **23**(9): 1159–1168.
- [9] 施伟庆, 张磊, 孙怀昌. 人胰腺激肽释放酶 cDNA 的克隆、序列分析和原核表达. *农业生物技术学报*, 2003, **11**(2): 169–172.
- [10] Gao B, Sun HC, Fang HX, Qian K, Zhao MS, Qiu HL, Song CY, Wang ZY. Expression and preliminary characterization of recombinant human tissue kallikrein in egg white of laying hens. *Poultry Science*, 2006, **85**: 1239–1244.
- [11] Sambrook J, Russell DW. *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*. Third Edition, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2002.
- [12] Durocher Y, Perret S, Kamen A. High-level and high-throughput recombinant protein production by transient transfection of suspension-growing human 293-EBNA1 cells. *Nucleic Acids Research*, 2002, **30**(2): e9.
- [13] Trautschold I, Werle E, Schweitzer G. *Methods of enzymatic analysis*, 1974, **2**(2): 1031–1034.
- [14] Heilig R, Perrin F, Gannon F, Mandel JL, Chambon P. The ovalbumin gene family: structure of the X gene and evo-

- lution of duplicated split genes. *Cell*, 1980, **20**: 625–637.
- [15] Kaye JS, Pratt-Kaye S, Bellard M, Dretzen G, Bellard F, Chambon P. Steroid hormone dependence of four DNase I hypersensitive regions located within the 7000-bp 5'-flanking segment of the ovalbumin gene. *EMBO J*, 1986, **5**(2): 277–285.
- [16] Haecker SA, Muramatsu T, Sensenbaugh KR, Sanders MM. Repression of the ovalbumin gene involves multiple negative elements including a ubiquitous transcriptional silencer. *Molecular Endocrinology*, 1995, **9**(9): 1113–1126.
- [17] Sanders MM, McKnight GS. Positive and Negative Regulatory elements control the steroid-responsive ovalbumin promoter. *Biochemistry*, 1988, **27**: 6550–6557.
- [18] Kato S, Tora L, Yamauchi J, Masushige S, Bellard M, Chambon P. A far upstream estrogen response element of the ovalbumin gene contains several half-palindromic 5-TGACC-3 motifs acting synergistically. *Cell*, 1992, **68**: 731–742.
- [19] Park HM, Haecker SE, Hagen SG, Sanders MM. COUP-TF plays a dual role in the regulation of the ovalbumin gene. *Biochemistry*, 2000, **39**(29): 8537–8545.
- [20] Choi T, Huang M, Gorman C, Jaenisch R. A generic intron increases gene expression in transgenic mice. *Molecular Cell Biology*, 1991, **11**: 3070–3074.
- [21] Palmiter RD, Sandgren EP, Avarbock MR, Allen DD, Brinster RL. Heterologous introns can enhance expression of transgenes in mice. *Pro. Nat Acad Sci USA*, 1991, **88**: 478–482.

科学出版社科学出版中心生命科学分社新书推介

恢复生态学导论(第二版)

李凌浩 刘庆 任海 等编著

978-7-03-020565-0 ¥48.00 2008年1月8日出版

本书是中国科学院华南植物园(前华南植物研究所)、成都生物研究所和植物研究所三位长期从事恢复生态学研究的研究员的合作成果之一。全书基于恢复生态学的理论研究与实践活动,阐述了恢复生态学概论、恢复生态学的理论基础、退化生态系统、生态系统恢复、各类型(森林、草地、湿地、水体、农田等)退化生态系统的恢复实践、全球变化与生物入侵、生态系统管理与可持续发展、恢复生态学理论和实践的挑战等问题。

本书是在第一版的基础上,结合近年来国际恢复生态学研究进展和我国恢复生态学实践,进行较全面的改写而成的。全书内容丰富、结构合理、资料新颖,具有较强的理论性和实践指导意义。

本书不仅可以作为高等院校生态学、林学、农学、地学、生物学、自然保护、环境保护专业师生及从事相关工作研究人员的参考书,还可以作为政府有关部门制定生态规划和环境保护政策、实施生态恢复工程的科学依据。



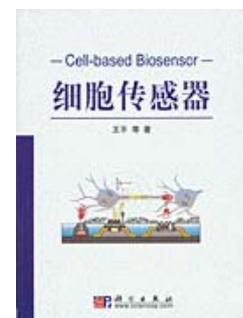
细胞传感器

王平等著

978-7-03-020666-4 ¥65.00 2008年1月4日出版

本书介绍了作者近年来进行的有关细胞传感器方面的研究成果及目前国际上在此领域的研究进展。全书共10章,分别论述了细胞的生理特性及其选择与培养、细胞传感器机理及模型分析,以及微电极阵列(MEA)细胞传感器、场效应晶体管(FET)细胞传感器、光寻址电位细胞传感器(LAPCS)、膜片钳细胞传感器、免疫细胞传感器、嗅觉与味觉细胞传感器的工作原理及在生物医学等领域中的应用,最后介绍了细胞传感器的发展趋势。其中大部分内容属于当今国际上的研究热点和前沿。

本书适合于生物医学传感技术有关的生物医学工程、生物化学传感技术、神经生理学、电子信息科学,以及人工智能等科学工作者,也适合于对交叉学科感兴趣的科技工作者阅读参考。



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