

综 述

Doppel 蛋白及其对动物生殖的影响

管峰¹, 石国庆², 潘磊¹, 柳楠³, 刘守仁², 杨利国⁴

1 中国计量学院生命科学院, 杭州 310018

2 新疆兵团绵羊繁育生物技术重点实验室, 石河子 832000

3 青岛农业大学动物科技学院, 青岛 266109

4 华中农业大学 农业动物遗传育种与繁殖教育部重点试验室, 武汉 430070

摘 要: Doppel(简称 Dpl)是新发现的一种糖基磷脂酰肌醇锚定(GPI)结构糖蛋白, 在结构上与朊蛋白(Prion protein, PrP)相似, 其编码基因位于朊蛋白编码基因(Prion protein gene, PRNP)下游, 但在生理功能上两者差异较大。Dpl 蛋白在成年动物体内的表达主要集中在睾丸组织, 对雄性动物精子完整性、活力以及维持正常受精能力等生殖功能具有重要作用。以下主要综述了 Dpl 蛋白的生物学特征、生理功能以及对雄性动物生殖调控的影响, 旨在为 Dpl 蛋白的功能研究和雄性动物生殖调控研究提供理论参考。

关键词: Dpl 蛋白, 生物学特征, 生理作用, 动物生殖

Doppel protein and its effects on animal reproduction

Feng Guan¹, Guoqing Shi², Lei Pan¹, Nan Liu³, Shouren Liu², and Liguo Yang³

1 College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China

2 The Key Sheep Breeding and Reproduction Biotechnology Laboratory of Xinjiang Production and Construction Group, Shihezi 832000, China

3 College of Animal Science, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China

4 Ministry of Education Key Laboratory for Agricultural Animal Genetics and Breeding, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract: Doppel protein (abbreviation Dpl) is a newly recognized Glycosyl phosphatidyl inositol (GPI) anchored and highly glycosylated protein, which is similar to prion protein (PrP) in the chemical structure. The encoding gene of Dpl named PRND locates at the downstream of the prion protein gene (PRNP). These two proteins are different in physiological functions. The expression of Dpl focuses on testis tissue at the adult, and takes an important role in maintaining sperm integrity, normal fertility, and motion ability. We reviewed the biological characters, physiological functions of Dpl and its effects on male reproduction in order to provide theory guidance for the study on physiological function and male reproduction controlling.

Keywords: Dpl protein, biological character, physiological functions, animal reproduction

Dpl 蛋白是在研究可传播海绵状脑病(TSE)小鼠疾病模型时偶然发现的和 TSE 病原 PrP 相似的一种蛋白质, 由于 Dpl 蛋白编码基因 PRND 位于 PRNP

下游, 因此随后被命名为 Doppel (PRNP downstream prion-like protein, Doppel, 简称 Dpl)。Dpl 蛋白是一种以 GPI 锚定并定位于细胞膜表面的糖蛋白, 主要

Received: August 4, 2008; **Accepted:** November 25, 2008

Supported by: the National Natural Science Foundation of China (No. C120103), National High-tech R&D Program of China (863 Program) (No. 2008AA101011).

Corresponding author: Feng Guan. Tel: +86-571-86835772; Fax: +86-571-86914449; E-mail: jlguanfeng@yahoo.com.cn
国家自然科学基金(No. C120103), 国家高技术研究发展计划(863 计划) (No. 2008AA101011)资助。

在成年动物睾丸组织高度表达,其生理功能和 PrP 有密切联系,Dpl 蛋白生理功能及其生物学特征的研究对于阐明 PrP 生理功能及雄性动物生殖调控等研究具有重要的理论参考价值。

1 Dpl 蛋白的发现及生物学特征

Dpl 蛋白及其编码基因 PRND 发现于 1999 年,是 Moore 等对小鼠 PRNP 进行全序列克隆时发现在其下游 16 kb 处的开放阅读框(Open reading frame, ORF)序列,其与 PRNP 在结构和转录特征上都极其相似,因此被命名为 Dpl 蛋白^[1]。小鼠 PRND 位于 2 号染色体短臂 PRNP 下游 16 kb 处,包含 3 个外显子和 2 个内含子,唯一的 ORF 位于第 2 个外显子上,产生 1.7 kb 和 2.7 kb 两个主要转录产物,编码 179 个氨基酸的前体蛋白^[2];之后经过多次修饰加工成为成熟蛋白,包括 N-端 23 个信号肽和 C-端 25 个疏水残基 GPI 锚定位点的剪切和 N-端 2 个糖基化位点之间二硫键的形成等^[3]。人类 PRND 位于染色体 20p-12,在 PRNP 下游约 23 kb 处^[4]。牛羊 PRND 包含 2 个外显子,其内含子分别为 1888 bp 和 1818 bp,分别位于 13q17 和 13q17/18,距 PRNP 分别 16.8 kb 和 20 kb^[5]。目前对牛、绵羊和人类的 PRND 研究表明,PRND 在人类和其他种属动物之间高度保守且具有较高的同源性,有学者认为 PRND 和 PRNP 来源于同一祖先且基因之间存在复制现象^[4]。对 PRND 编码序列研究表明,在多种动物如牛、绵羊和山羊以及人类中存在遗传多样性(如 SNP 和基因插入/缺失),但是这些多样性和 Dpl 蛋白功能以及 TSE 疾病无显著相关关系^[6-8]。

PRND 编码一个 N 端糖基化的 179 个氨基酸残基的 GPI 锚定结构糖蛋白,在序列上与 PRNP 相似。在结构上,Dpl 蛋白与 PrP 具有 25% 的同源性,与 PrP 的 C 端球状域具有 50% 同源性,一般被认为是缩短了的 PrP^[8]。

Dpl 蛋白在粗面内质网和高尔基体上进行合成后转运到细胞膜^[9]。PRND 转录产物 mRNA 在成年野生型小鼠多种组织表达,在睾丸和心脏中高度表达,在脾脏和骨骼肌中低表达,在脑中不表达;但是在胚胎形成早期和新生小鼠脑中 mRNA 表达水平显著,且在所有组织普遍表达,随着年龄增长表达减少,成年后大脑及神经中枢系统中表达缺失^[10]。

同样,Dpl 蛋白在人类新生儿的所有组织表达,在成年人的睾丸组织特异性表达^[4]。人类 PRND 转录产物有多个亚型,主要有 3.9 kb 和 4.4 kb 两种产物,另外还有 3 种较小产物分别为 1.3 kb、1.9 kb 和 2.0 kb,约占总表达量的 10%~16%^[4]。

尽管 Dpl 蛋白及其编码基因 PRND 在不同物种间具有高度保守性,但仍存在差异。对牛羊 PRND cDNA 序列克隆研究表明,两者在核酸水平上具有高度一致性,除了牛 0.2 kb 的 3' 末端和 0.4 kb 的 3' 端非翻译区(UTR)延长序列(2006~2410 nt)外,两者具有 96% 的同源性,氨基酸序列具有 95% 的同源性。这种差异还表现在部分编码序列在种间差异较大,如牛羊第一外显子(96% 同源)与人和小鼠的第一外显子只有 25% 同源性^[5]。牛羊 PRND 序列 ORF 均编码 178 个氨基酸残基的蛋白质,两者具有 95% 的同源性,与以前报道的大鼠、小鼠和人的 PRND 也具有相似的结构特征^[11]。通过 RT-PCR 和 Northern blotting 对 Dpl 蛋白在牛羊组织表达的研究发现,Dpl 蛋白在牛羊睾丸组织均有高度表达,在脾脏和卵巢少量表达;另外,还在两者心脏、乳腺中检测到表达产物,在牛附睾、肾脏、肺和绵羊咽后淋巴结也有部分表达,这种表达模式与分布表明 Dpl 蛋白在动物体内可能具有多种潜能^[11];而在人类和小鼠中的表达则局限在睾丸和精子中^[12]。

Dpl 蛋白在牛精子发育的各个阶段均有表达,包括从精原细胞到射出的成熟精子;在支持细胞、颗粒细胞和滋养层细胞及滤泡也有表达^[12]。对比 Dpl 蛋白在小鼠组织中的表达、分布和生理功能,推测其在牛生殖过程中可能参与了精子成熟和获能过程^[9,12],但尚需进一步验证。对 Dpl 蛋白表达进一步研究表明,Dpl 蛋白在山羊卵巢和睾丸发育各个时期均有表达,但在卵巢和睾丸生殖细胞的表达部位和表达水平上存在差异。性成熟山羊性交后 36~46 d 在睾丸中 Dpl 蛋白的表达持续增加并在此之后维持在较高水平,这一时期的表达主要集中在生殖细胞的细胞核和睾丸间质细胞的胞质中;62 d 还在间质细胞、生殖细胞和支持细胞的胞质中表达;而在卵巢的表达水平相对稳定,性交后 44 d 在卵巢的表达集中在生殖细胞的细胞核,在 62 d 后集中在胞质中^[13]。这一表达模式与牛 Dpl 蛋白表达模式类似,但与绵羊不同。绵羊在青春期前睾丸组织既没有 Dpl 蛋白

也没有其 mRNA 的表达,而在成年绵羊睾丸中两者均有表达,但在射出的精子中却没有^[13,14]。

2 Dpl 蛋白结构及生理作用

Dpl 在结构上与 PrP 相似,以 GPI 锚定于细胞膜,被认为是缩短了的 PrP。核磁共振(NMR)研究表明,Dpl 的拓扑结构和 PrP 相似,相当于 PrP 的 C-端球状结构域,具有 3 个 α 螺旋和 2 个反向 β 折叠,前者占 40%,对蛋白酶敏感^[15,16]。Dpl 在一级结构上和细胞 PrP 的 C 端 2/3 有 25% 的同源性,缺乏 PrP 的 N 端 8 肽重复区和一段高度疏水区及铜离子结合域^[17]。在 N 端 1~23 氨基酸残基为信号肽,153~179 参与 GPI 的形成,在 94 和 145 位及 108 和 140 位半胱氨酸之间形成 2 个二硫键;在 99 和 111 位的天冬氨酸位置形成 2 个糖基化位点(图 1 所示),但在形成过程中并不像 PrP 结构变异那样形成过度结构再转变为富含 β 折叠结构的蛋白质,Dpl 结构变化和朊蛋白疾病潜伏期及临床症状等无关^[16]。

Dpl 蛋白在动物体内的生理作用尚不完全清楚,其在体内的生理功能和 PrP 具有密切关系,对 Dpl 蛋白功能的研究多是通过动物模型和细胞模型进行的。尽管 Dpl 和 PrP 在结构上相似,但是在表达上差异很大,PrP 主要在神经组织表达,而 Dpl 主要在睾丸组织表达^[10]。在人类新生儿各种组织表达,但是表达水平差异较大且 mRNA 亚型较多^[4]。Dpl 蛋白

在成年动物特定组织特异性表达和早期共表达,推测 Dpl 可能参与生长发育的调节过程。同时,Dpl 在山羊的卵巢和睾丸存在不同的时空表达,推测可能与山羊睾丸早期功能分化有关^[13]。在 PRND 以及 PRND 和 PRNP 基因敲除的小鼠发育过程中(90 周龄),小鼠均表现正常,也未出现明显的神经学上的异常情况^[18]。而在另外一项 PRNP 敲除小鼠的研究中,Dpl 蛋白在成年小鼠大脑中出现异位表达,之后小鼠出现共济失调症状^[19]。

在 PRNP 基因敲除的小鼠中,Dpl 蛋白在小鼠大脑表达并积聚,随后引起神经元细胞凋亡;而 PRND 敲除小鼠出现雄性不育病理表现^[19]。研究发现,当 PRND mRNA 不是在睾丸组织和卵巢而在成年动物中枢神经系统中表达时则会出现神经退行性疾病症状。PRNP 基因敲除小鼠出现共济失调和小脑蒲肯野氏细胞消失等退行性病变等症状;但是如果与 PrP 共表达,则可以消除 Dpl 异位表达引起的神经病变,但 Dpl 水平过高仍会引起共济失调症状^[19]。出现共济失调症状病理现象的原因可能与 Dpl 蛋白的毒性有关,该蛋白具有较强的氧化能力且可以改变一氧化氮合酶(NOS)的活性^[20]。体外研究表明,Dpl 蛋白对神经元细胞具有毒性作用,这种毒性可以被 PrP 所抑制。Wong 等研究发现,Dpl 蛋白在大脑的过量表达可以增加脑部脂质过氧化反应、硝基酪氨酸形成、蛋白质氧化和亚硝酸盐的生成等^[21]。

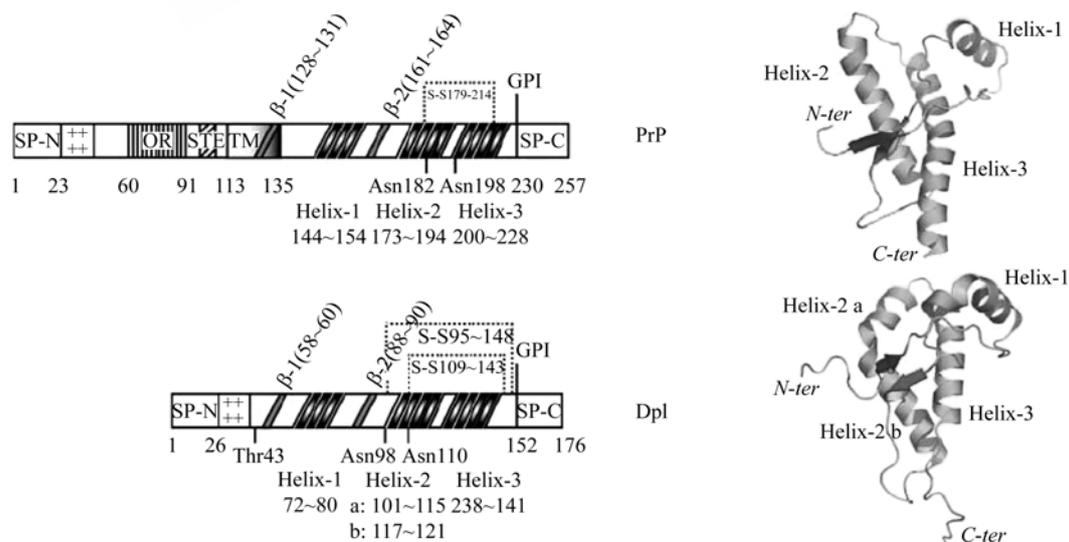


图 1 人类 PrP 和 Dpl 蛋白二级和相应三级结构比较^[8]

Fig. 1 Comparison of human PrP and Dpl with secondary structures and corresponding three dimensional conformations^[8].

后来 Cui 等人采用无血清培养基培养小脑神经元细胞, 通过添加不同剂量 Dpl 蛋白和细胞计数等手段, 证明培养液中 Dpl 蛋白浓度大于 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时对 PrP 缺陷型小鼠神经元细胞具有毒性, 但是对野生型和 PrP 超表达的小鼠无影响; 当浓度大于 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时对野生型小鼠神经元细胞具有明显的毒性, 而对 PrP 超表达的小鼠无影响, 表明 Dpl 蛋白对细胞的毒性具有 PrP 表达量依赖性, 这种毒性机制是通过一氧化氮产物和细胞凋亡而发生作用的, 这种毒性可以通过直接添加 PrP 而得到抑制, 实验还证实 Dpl 蛋白诱导 NOS 的表达, 氧化亚氮抑制剂也可以阻止这种毒性^[20]。

总体来说, Dpl 蛋白对神经元细胞具有毒性。在 PRNP 敲除小鼠中, 连接在 PrP 上相对较强的启动子直接从 PRND 的阅读框操控了 Dpl 蛋白的过量表达, 其加剧了氧化应激, 导致血红素加氧酶(HO-1)和 NOS 参与的反应发生^[21]; Dpl 在鼠类成神经瘤细胞和星形胶质细胞的异位表达直接诱导细胞凋亡的级联效应, 这种连锁反应是通过激活半胱天冬酶-10 和半胱天冬酶-3 而发挥作用的, 最终导致出现神经系统病变^[22]。

Dpl 的生理作用还和 Cu^{2+} 有关, 基于与 PrP 结构上的共同特征, 早期研究者认为在生理条件下 Dpl 蛋白对 Cu^{2+} 具有结合特性, 并随着 pH 值的降低 Dpl 蛋白对 Cu^{2+} 结合位点增加^[23], Qin 等证实 Dpl 蛋白对 Cu^{2+} 具有结合能力^[24]; 也有观点认为 Dpl 蛋白不是铜结合蛋白, 因为在同样条件下, 相比 PrP 来说 Dpl 蛋白对铜的结合力差异极大, 前者每个分子结合 4.6 ± 0.6 个铜原子, 后者只有 0.2 ± 0.2 个^[20]。这可能与研究条件和研究对象有关, 不过值得肯定的是, 铜的结合在 Dpl 蛋白的生理作用中非常重要, 具有调节、稳定或者固定蛋白的作用^[23]。

另外, Dpl 蛋白对一些肿瘤发生起到重要作用。对阿耳茨海默(AD)病人营养不良神经元的免疫学研究表明, 在发病过程中 Dpl 蛋白具有引发小神经胶质细胞和星形细胞对淀粉样蛋白沉积物反应的作用; PRND 在神经细胞瘤中转录后的 mRNA 滞留在细胞质内, 由于 GPI 结合位点丢失而不能到达细胞膜^[25,26]。Comincini 等的研究同样证明, 中枢神经系统肿瘤病变和 Dpl 蛋白表达存在密切关系, 健康与病变或者新生肿瘤患者的大脑组织对 Dpl 蛋白表达量存在明

显差异, 在多发神经肿瘤如星形细胞瘤或者神经胶质细胞瘤中, Dpl 蛋白表达量和肿瘤恶化程度成平行关系^[27]。因此, Dpl 蛋白被认为是肿瘤发生的新型标志物。

3 Dpl 与动物生殖

Dpl 蛋白位于细胞膜, 属于精子表面 GPI 锚定蛋白(GPI-APs)的一种, 是一种高度糖基化的 GPI-AP。GPI-APs 包括多种补体限制因子、胞外酶和受体, 主要参与精子成熟、获能、运动、顶体反应、精卵结合和生殖细胞分化等多个过程, 在调节雄性生殖中起到重要作用^[28]。Dpl 蛋白在已有研究物种中均在睾丸高度表达, 分子量 29~40 kD, 在精子发生、精卵结合和受精中具有重要作用。Dpl 蛋白在睾丸中的表达主要定位在睾丸组织的生殖管道, 精确定位于精子尾部鞭毛, 还在睾丸支持细胞表达, 参与精子运动, 对精子发生各个阶段都具有重要作用, 但具体功能尚不完全清楚^[29]。

PRND 基因敲除小鼠在发育过程中表现正常, 雌性生育正常, 而雄性不育^[22], 因此推测 Dpl 蛋白对精子生成或对受精过程具有重要作用, 这一现象也在人类研究中得到证实^[29]。对小鼠的研究表明, Dpl 在野生型小鼠的曲精小管中心表达, 精子对 Dpl 蛋白产生免疫反应。PRND 基因敲除的小鼠, 其精子鞭毛无定向能力、尾部向精子头部折叠, 同时精子头部严重畸形率增加, 顶体破坏或丧失^[22]。体外受精(IVF)研究表明, 该类精子体外不具受精能力, 精子具有向透明带定向移动能力但不能穿透透明带; 人为破坏透明带后可以受精, 但受精能力远低于野生型小鼠^[22]。后来, Paisley 等对基因敲除小鼠进一步研究发现, PRND 和 PRNP 同时敲除的小鼠, 在精子形态、密度和活力方面都表现正常, 尽管因为精子无顶体反应能力, 相对野生型小鼠受精率很低, 但是体内外实验证明均有精子发生受精, 不过受精后的胚胎在早期(桑椹胚)就开始出现衰退现象, 这一过程中出现精子 DNA 过氧化损害; 该研究小组还对 PRND 基因敲除小鼠的精子形态、密度和活力等方面进行了研究, 与前人研究结果不同的是, 这些指标都表现正常^[21]。两次出现不同结果的原因尚不清楚, 推测可能与小鼠的遗传背景有很大关系, 早期 PRNP 敲除研究所用的是杂交系小鼠 C57BL6/CBA,

而 Paisley 所用小鼠是高度近交系 129/Ola。尽管目前对 Dpl 蛋白功能研究结果不尽一致,但值得肯定的是 Dpl 蛋白在精子发生、维持精子顶体完整性和受精能力等方面都具有重要作用,其作用机制可能和破坏透明带的某种顶体酶有关。目前,Dpl 在生殖中作用的研究已经在牛^[12]、绵羊^[14]等多种动物以及人类^[30]中展开。

4 展望

Dpl 蛋白在雄性动物生殖尤其在精子生成和受精中具有重要作用。目前许多研究小组开展了 Dpl 蛋白的生物学特征和生理功能的研究并取得了重大进展,但有许多问题仍值得进一步研究,如 Dpl 蛋白在精子鞭毛结构中的作用,在精卵结合中的作用机制、信号调节以及在透明带破坏中的作用机制等。随着对 Dpl 蛋白研究的深入,基因功能片段的克隆和表达等研究将为揭示该蛋白生理功能以及阐明在雄性生殖中的作用和雄性不育等研究提供参考。同时,PRND 中发现的基因遗传多样性(如 SNP)也是将来重要的研究对象,这些碱基的改变可能对蛋白的功能产生重大影响,甚至导致动物生产性能或表型产生巨大变化,本实验室对绵羊多胎 Fec^B 基因突变(Q249R)的研究就充分证明了这一点^[31]。对 Dpl 蛋白的深入研究对研究 PrP 的功能、表达和朊蛋白疾病传播机制以及雄性生殖调控等都具有重要参考价值,相信这些研究在不久的将来将会逐渐被人们所了解。

REFERENCES

- [1] Moore RC, Lee IY, Silverman GL, *et al.* Ataxia in prion protein (PrP)-deficient mice is associated with up-regulation of the novel PrP-like protein doppel. *J Mo Bio*, 1999, **292**(4): 797–817.
- [2] Mo H, Moore RC, Cohen FE, *et al.* Two different neurodegenerative diseases caused by proteins with similar structures. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(5): 2352–2357.
- [3] Sakaguchi S. Molecular biology of prion protein and its first homologous protein. *J Med Invest*, 2007, **54**(3/4): 211–223.
- [4] Makrinou E, Collinge J, Antoniou M. Genomic characterization of the human prion protein (PrP) gene locus. *Mamm Genome*, 2002, **13**(12): 696–703.
- [5] Comincini S, Foti MG, Tranulis MA, *et al.* Genomic organization, comparative analysis, and genetic polymorphisms of the bovine and ovine prion Doppel genes (PRND). *Mamm Genome*, 2001, **12**(9): 729–733.
- [6] Balbus N, Humeny A, Kashkevich K, *et al.* DNA polymorphisms of the prion doppel gene region in four different German cattle breeds and cows tested positive for bovine spongiform encephalopathy. *Mamm Genome*, 2005, **16**(11): 884–892.
- [7] Uboldi C, Del Vecchio I, Foti MG, *et al.* Prion-like Doppel gene (PRND) in the goat genomic structure, cDNA, and polymorphisms. *Mamm Genome*, 2005, **16**(12): 963–971.
- [8] Watts JC, Westaway D. The doppel gene biology: a scientific journey from brain to testis, and return. *Biochim Biophys Acta*, 2007, **1772**(6): 654–672.
- [9] Ding TB, Xing YJ, Wei B, *et al.* Advances on research of doppel protein. *J Path Biol*, 2006, **1**(6): 457–461.
丁天兵, 邢玉洁, 魏波, 等. Doppel 蛋白研究进展. 中国病原生物学杂志, 2006, **1**(6): 457–461.
- [10] Li A, Sakaguchi S, Shigematsu K, *et al.* Physiological expression of the gene for PrP-like protein, PrPLP/Dpl, by brain endothelial cells and its ectopic expression in neurons of PrP-deficient mice ataxic due to Purkinje cell degeneration. *Am J Pathol*, 2000, **157**(5): 1447–1452.
- [11] Tranulis MA, Espenes A, Comincini S, *et al.* The PrP-like protein Doppel gene in sheep and cattle cDNA sequence and expression. *Mamm Genome*, 2001, **12**(5): 376–379.
- [12] Rondena M, Ceciliani F, Comazzi S, *et al.* Identification of bovine doppel protein in testis, ovary and ejaculated spermatozoa. *Theriogenology*, 2005, **63**(4): 1195–1206.
- [13] Kocer A, Gallozzi M, Renault L, *et al.* Goat PRND expression pattern suggests its involvement in early sex differentiation. *Dev Dyn*, 2007, **236**(3): 836–842.
- [14] Espenes A, Harbitz I, Skogtvedt S, *et al.* Dynamic expression of the prion-like protein Doppel in ovine testicular tissue. *Int J Androl*, 2006, **29**(3): 400–408.
- [15] Mo H, Moor RC, Cohen FE, *et al.* Two different neurodegenerative diseases caused by proteins with similar structures. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(5): 2352–2357.
- [16] Luhrs T, Riek R, Guntert P, *et al.* NMR structure of the human doppel protein. *J Mol Biol*, 2003, **326**(5): 1549–1557.
- [17] Genoud N, Behrens A, Miele G, *et al.* Disruption of Doppel prevents neurodegeneration in mice with extensive Prnp deletions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(12): 4198–4203.
- [18] Paisley D, Banks S, Selfridge J, *et al.* Male infertility and DNA damage in Doppel knockout and prion protein Doppel double-knockout mice. *Am J Pathol*, 2004, **164**(6): 2279–2288.
- [19] Behrens A, Genoud N, Neumann H, *et al.* Absence of the

- prion protein homologue Doppel causes male sterility. *EMBO J*, 2002, **21**(14): 3652–3658.
- [20] Cui T, Holme A, Sassoon J, *et al.* Analysis of doppel protein toxicity. *Mol Cell Neurosci*, 2003, **23**(1): 144–155.
- [21] Wong BS, Liu T, Paisley D, *et al.* Induction of HO-1 and NOS in doppel-expressing mice devoid of PrP: implications for Doppel function. *Mol Cell Neurosci*, 2001, **17**(4): 768–775.
- [22] Qin K, Zhao L, Tang Y, *et al.* Doppel-induced apoptosis and counteraction by cellular prion protein in neuroblastoma and astrocytes. *Neuroscience*, 2006, **141**(3): 1375–1388.
- [23] Brown DR, Qin K, Herms JW, *et al.* The cellular prion protein binds copper *in vivo*. *Nature*, 1997, **390**(6661): 684–687.
- [24] Qin K, Coomaraswamy J, Mastrangelo P, *et al.* The PrP-like protein Doppel binds copper. *J Biol Chem*, 2003, **278**(11): 8888–8896.
- [25] Comincini S, Facoetti A, Del Vecchio I, *et al.* Differential expression of the prion-like protein doppel gene (PRND) in astrocytomas: a new molecular marker potentially involved in tumor progression. *Anticancer Res*, 2004, **24**(3a): 1507–1517.
- [26] Comincini S, Chiarelli LR, Zelini P, *et al.* Nuclear mRNA retention and aberrant doppel protein expression in human astrocytic tumor cells. *Oncol Rep*, 2006, **16**(6): 1325–1332.
- [27] Comincini S, Ferrara V, Arias A, *et al.* Diagnostic value of PRND gene expression profiles in astrocytomas: relationship to tumor grades of malignancy. *Oncol Rep*, 2007, **17**(5): 989–996.
- [28] Zou M, Hu SG, Hu JM. Glycosylphosphatidylinositol anchored proteins (GPI-APs) on the surface of sperm. *Reprod Contracept*, 2008, **28**(1): 36–40.
邹美, 胡双纲, 胡建民. 精子表面的 GPI 锚定蛋白. 生殖与避孕, 2008, **28**(1): 36–40.
- [29] Peoch K, Serres C, Frobert Y, *et al.* The human “prion-like” protein Doppel is expressed in both Sertoli cells and spermatozoa. *J Bio Chem*, 2002, **277**(45): 43071–43078.
- [30] Serres C, Peoch K, Courtot AM, *et al.* Spatio-developmental distribution of the prion-like protein doppel in mammalian testis: a comparative analysis focusing on its presence in the acrosome of spermatids. *Biol Reprod*, 2006, **74**(5): 816–823.
- [31] Guan F, Liu SR, Shi GQ, *et al.* Polymorphism of FecB gene in nine sheep breeds or strains and its effects on litter size, lamb growth and development. *Anim Reprod Sci*, 2007, **99**(1/2): 44–52.

我单位《生物工程学报》等4种期刊论文数据库制作完成并上网

为提高期刊的显示度, 加强对历史文档的整理、保护和利用, 更好地为科研人员提供信息服务, 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部历时近1年, 将包括《生物工程学报》、《微生物学报》、《菌物学报》、《微生物学通报》等4种期刊自第1卷第1期开始, 全部逐页扫描、分类检索, 进行数字化制作, 建成了回溯文档全文数据库, 共计130卷620余期, 约1万多篇论文。由于年代久远, 很多版本已成孤本, 搜集整理及制作工作耗时半年多, 目前已全部完成, 并已上传至各编辑部网页供所有读者免费浏览下载。读者只要输入题目、关键词、年卷期、作者、单位等信息, 就可以方便地检索出四刊发表过的全部相关文章。

此外, 2008年起, 我所四刊将采用 Open Access(开放存取)模式出版, 各刊当期新发表的文章将先于印刷版在网上全文发布, 以利信息的更快传播, 提高文章的阅读量和被引频次。

欢迎浏览下载, 欢迎投稿。请登录期刊联合编辑部网址: <http://journals.im.ac.cn>。