

肿瘤抑素抗肿瘤相关肽的克隆及生物活性

王淑静, 刘岩, 林雪松, 付雪, 徐建永, 刘兴汉*

(哈尔滨医科大学生物化学与分子生物学教研室, 黑龙江省生物医药工程重点实验室

省部共建国家重点实验室培育基地, 哈尔滨 150086)

摘要 为得到肿瘤抑素中具有直接抗肿瘤活性肽并检测其生物学活性,人工合成肿瘤抑素中 185~203 位氨基酸(19 肽)所对应的核苷酸序列,将其连接到融合蛋白表达载体 pTYB2 中,酶切和测序鉴定后,转化到大肠杆菌 BL-21(DE3)中诱导表达.表达的融合蛋白经几丁质亲和层析、二硫苏糖醇(DTT)的柱内还原,直接获得可溶性 19 肽.利用 MTT 法,细胞生长曲线,小鼠 H22 腹水型转移型肝癌实体瘤模型抑瘤实验并结合组织病理学切片,研究 19 肽的生物学活性.获得的 19 肽对 B16 小鼠黑色素瘤细胞、人 SMMC-7721 肝癌细胞、人脐静脉内皮细胞的生长均具有抑制作用.小鼠 H22 腹水型肝癌抑瘤率达 48.46%.病理学切片显示,19 肽可促使小鼠肿瘤组织坏死,血管数量减少.19 肽具有较强的直接抗肿瘤活性,有可能成为肿瘤治疗的一种新的有前景的药物.

关键词 肿瘤抑素,蛋白质表达,蛋白质纯化,肿瘤治疗

中图分类号 Q78, Q25

Cloning and Biological Activity of Anti-tumor Peptide of Tumstatin

WANG Shu-Jing, LIU Yan, LIN Xue-Song, FU Xue, XU Jian-Yong, LIU Xing-Han*

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Harbin Medical University, Biopharmaceutical Key Laboratory of

Heilongjiang Province Incubator of State Key Laboratory, Harbin 150086, China)

Abstract To obtain anti-tumor peptide of tumstatin and detect its biological activity, the nucleotide sequence encoding 185~203 amino acids (19 peptide) of tumstatin was synthesized and inserted into the fusion protein vector pTYB2. After identification by sequencing and restriction, the recombinant vector was transformed into *E. coli* BL-21 (DE3). Transformants were induced by IPTG, and then expressed. By DTT reduction, the soluble 19 peptide was obtained from chitin affinity chromatography. The biological activities of 19 peptide were determined by MTT assay, cell growth curve and effect of the ascitic fluid transfevent H22 hepatoma of mice and histopathological slice. The purified 19 peptide directly inhibited proliferation and migration of murine B16 melanoma cell, SMMC-7721 hepatoma carcinoma cell, human umbilical vein endothelial cell. The tumor inhibition rate of ascitic fluid transfevent H22 hepatoma in mice was 48.46%. Histopathological slice showed that it could promote tumor tissue necrosis and decrease the density of blood vessel. With higher anti-tumor activity, 19 peptide has potential to become a novel, potent anti-tumor agent.

Key words tumstatin, protein expression, protein purification, tumor therapy

肿瘤抑素(tumstatin)来源于胶原蛋白₃链的非胶原区,在80年代作为肺-肾出血综合症的自身抗原被发现^[1].2000年,Kamphaus及其同事发现它有2个不同的抗肿瘤活性区,执行直接和间接的抗肿瘤作用^[2].接近N端的54~132位氨基酸组成的79肽具有内皮抑素的抗肿瘤血管生长作用.靠近C端的185~203位氨基酸所构成的19肽直接抑制肿瘤细胞的增殖,在不依赖玻连蛋白(vitronectin)、纤连蛋白(fibronectin)、RGD序列的情况下与整合素 α v β 3

结合,介导细胞间的相互作用,引起黑色素瘤细胞、纤维瘤细胞和其他上皮肿瘤细胞以及多形核白细胞

收稿日期:2004-08-13,接受日期:2004-10-19

国家自然科学基金资助项目(No.30472035)

*联系人:Tel:0451-86671684, E-mail:Liuxh@ems.hrpu.edu.cn

Received: August 13, 2004; Accepted: October 19, 2004

Supported by National Natural Science Foundation of China (No.30472035)

*Corresponding author Tel:0451-86671684

E-mail: Liuxh@ems.hrpu.edu.cn

等不同细胞粘附、趋化以及增生的抑制^[3]。但 19 肽作为肿瘤抑素整体的一部分时,不显示抗肿瘤细胞增殖的功能,可能是此活性区域被掩盖,阻碍与受体的结合,影响了功能的发挥。我们设计合成了 19 肽对应的核苷酸序列,与 pTYB2 载体重组,在 *E. coli* BL-21 (DE3) 中表达,经几丁质亲和层析纯化,获得可溶性 19 肽,对其抗肿瘤活性进行了初步研究。

1 材料和方法

1.1 材料

大肠杆菌 JM109 和 BL-21 (DE3) 购自 Promega 公司;小鼠 B16 黑色素瘤细胞、人 SMMC-7721 肝癌细胞、人脐静脉内皮细胞、H22 小鼠肝癌细胞分别由哈医大附属二院皮肤科、哈医大组胚教研室、哈医大生化教研室、哈医大免疫教研室提供。昆明小鼠购自哈医大附属三院。T4 DNA 连接酶、T4 多核苷酸激酶、质粒提取试剂盒购自 Promega 公司;pTYB2 载体、几丁质亲和层析树脂、限制性内切酶 *Sma*、*Nde*、*Xho* 购自 NEB 公司;蛋白质分子量标准、DNA 分子量标准、考马斯亮蓝 G250、二硫苏糖醇 (DTT)、异丙基硫代-*D*-半乳糖苷 (IPTG) 购自 TaKaRa 公司;酵母抽提物、蛋白胨为英国生产;RPMI1640 细胞培养基、胰酶、DMSO、MTT、台盼蓝购自 Sigma 公司;胎牛血清购自灏洋生物公司。

1.2 19 肽基因的合成

采用大肠杆菌中偏爱的密码子,设计肿瘤抑素第 185~203 位氨基酸所对应的核苷酸序列,5 端加上 *Nde* 限制酶酶切产生的粘端 TATG,内含翻译起始密码。3 端为平端和融合蛋白载体所含有的内含肽基因的 5 端连接。具体序列如下,19 肽所对应的核苷酸序列由上海生物工程公司合成。

第一条链:5'-TATG GCT AGC CCT TTC CTA GAA TGT CAT GGA AGA GGA ACG TGC AAC TAC TAC TCA AAC TCC-3'

第二条链:3'-AC CGA TCG GGA AAG GAT CTT ACA GTA CCT TCT CCT TGC ACG TTG ATG ATG AGT TTG AGG-5'

1.3 19 肽基因工程菌的构建

将合成的 19 肽基因的两个单核苷酸链磷酸化后退火,成为双链 DNA。载体 pTYB2 用 *Nde* 和 *Sma* 限制酶酶切,琼脂糖凝胶电泳回收(具体操作参照上海生工胶回收试剂盒说明),与 19 肽基因重组,转化到感受态大肠杆菌 JM109 中。重组质粒经 *Nde* 和 *Xho* 酶切验证后,进行基因测序。

1.4 基因工程菌的表达纯化

将 19 肽基因与 pTYB2 载体重组质粒 pTYB2-T 转化到大肠杆菌 BL-21 (DE3) 中,挑取单菌落至 10 ml 加入含氨苄青霉素 (100 μg/ml) 的 LB 培养基中,37℃ 振荡培养过夜。次日,以 1:50 接种于含氨苄青霉素的 250 ml LB 中培养至 A_{600} 值达到 0.5 时加入 0.1 mmol/L IPTG,28℃ 诱导 6 h,4℃,5 000 r/min 离心 10 min,取沉淀反复冻融后,加入预冷的裂解缓冲液悬浮菌体沉淀,冰浴超声破菌,4℃,19 000 r/min,30 min 离心,取上清,上几丁质亲和层析柱。参照余琼等^[4]介绍的方法进行洗脱和检测。

1.5 19 肽抑制细胞生长活性试验

1.5.1 MTT 比色实验 将对数生长期贴壁生长的小鼠 B16 黑色素瘤细胞、人 SMMC-7721 肝癌细胞、人脐静脉内皮细胞分别用 0.25% 胰酶消化,培养基终止反应后,分别加入 3 块 96 孔板中,每孔加入 5×10^3 个细胞,培养 24 h 细胞贴壁后加入不同浓度的 19 肽。每个浓度设定 6 个复孔。19 肽的终浓度梯度为:0 μg/ml,44 μg/ml,88 μg/ml,132 μg/ml,176 μg/ml,220 μg/ml。用培养基调零,酶标仪检测,做出相应曲线。具体操作参照余琼等介绍的方法^[4]。

1.5.2 生长曲线 分别取生长状态良好的小鼠 B16 黑色素瘤细胞、人 SMMC-7721 肝癌细胞、人脐静脉内皮细胞常规方法消化,制备成细胞悬液。以 1.5×10^4 个/孔准确接种在 24 孔板,培养 24 h 细胞贴壁后,将每种细胞分为 2 组,实验组每孔加入终浓度为 44 μg/ml 的 19 肽,对照组加入等量的 PBS 缓冲液,每 d 取 3 个孔计数,求出平均值,持续计数 6 d。分别绘制 3 种细胞对照组和实验组的生长曲线,对结果比较分析。

1.5.3 细胞形态学观察 取生长状态良好的小鼠 B16 黑色素瘤细胞、人 SMMC-7721 肝癌细胞、人脐静脉内皮细胞采用一般方法消化,制成细胞悬液。于 6 孔板各孔中准确接种 5×10^4 个细胞,将处理好的盖玻片放入 6 孔板中。培养 24 h,实验组各孔加入终浓度为 22 μg/ml 的 19 肽,对照组加入等量的 PBS 缓冲液,48 h 后,取出盖玻片,苏木精-伊红染色,37℃ 干燥后显微镜观察。

1.6 19 肽动物体内抑瘤活性

1.6.1 小鼠体内肿瘤抑制 将冻存的小鼠 H22 肝癌细胞置于 37℃ 水浴 1~2 min,待细胞融化后,取 0.2 ml 注入小鼠腹腔。10 d 后,取腹水,调整活细胞浓度至 3×10^7 个/ml。以 0.15 ml 皮下右前肢腋下注入体重在 18~22 g 的雄性昆明小鼠,共 24 只。3 d

后,可触及到皮下结节时将动物随机分为 2 组,实验组每日腹腔注射 19 肽 4.3 mg/kg, 对照组给予等量生理盐水,连续用药 7 d 后,处死小鼠,称其瘤重并进行统计学分析.

1.6.2 小鼠肿瘤病理组织学检查 剥离肿瘤,常规固定石蜡包埋、切片,进行苏木精-伊红染色,显微镜观察和病理学分析.

2 结果

2.1 重组质粒的酶切鉴定

质粒 pTYB2 在 *Nde* 和 *Sma* 之间有 *Xho* 酶切位点,19 肽重组质粒 pTYB2-T 在构建过程中已将 *Xho* 酶切位点切除.通过 *Nde* 和 *Xho* 酶切验证为重组质粒后送上海博亚生物工程技术公司测序,结果与设计完全一致,如 Fig. 1 和 Fig. 2 所示.

1 2 3 4 5 6 bp

15000
7500
5000

2500

1000

Fig. 1 Electrophoresis of digested recombinant plasmid pTYB2-T
1 :pTYB2-T by *Xho* ; 2 :pTYB2-T by *Nde* ; 3 : pTYB2-T;
4 :pTYB2 by *Nde* ; 5 :pTYB2; 6 :Marker

ATACATATGCGTAGCCCTTTCCTAGAATGTCATGGAAAGGGAACGTCGAACACTACTACTCAAACTCCGGGTG
30 40 50 60 70 80 90

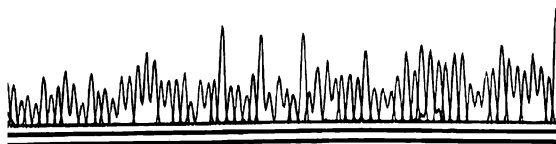


Fig. 2 Local sequencing result of recombinant plasmid pTYB2-T

2.2 蛋白表达和纯化

19 肽重组质粒在大肠杆菌 BL-21 (DE3) 中以融合蛋白形式表达.19 肽融合蛋白分子量为 55 kD.19 肽重组质粒经诱导后的菌体沉淀及超声处理的上清

在 SDS-PAGE 中于 55 kD 处有明显的蛋白条带,说明 19 肽在大肠杆菌中以可溶性融合蛋白的形式进行了表达.将不同诱导条件下收集的菌体沉淀进行电泳,6 h,表达量最高,诱导剂 IPTG 的浓度在 0.1 mmol/L ~ 1.0 mmol/L 范围内对蛋白表达量影响并不明显.经几丁质亲和层析,二硫苏糖醇的还原,19 肽与载体蛋白解离.19 肽因分子量比较小,在电泳中未能显示出条带.蛋白电泳及层析峰值曲线如 Fig. 3 和 Fig. 4 所示.

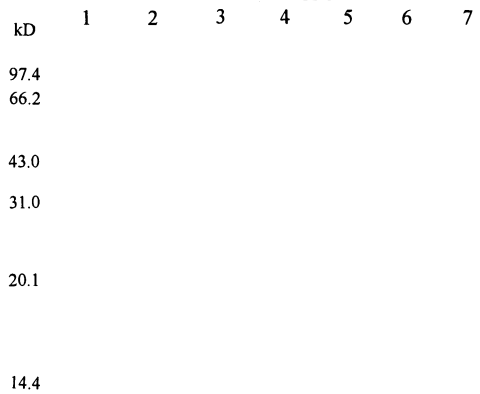


Fig. 3 SDS-PAGE analysis of expression and purification of 19 peptide
1 :Marker ; 2 :After induction ; 3 :Supernatant protein ;
4 : Precipitation ; 5 :Mixed protein of *E. coli* ;
6 :19peptide isolated from fusion protein ; 7 :Vector protein

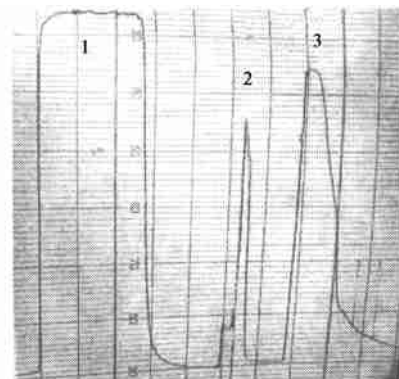


Fig. 4 Curves of affinity chromatography for 19peptide
Peak 1 :Mixed protein of *E. coli* ;
Peak 2 :19 peptide isolated from fusion protein ;
Peak 3 :Vector protein

2.3 19 肽抑制细胞生长活性试验

2.3.1 MTT 比色实验 根据细胞存活率-19 肽浓度曲线 (Fig. 5) 可见,19 肽不仅对小鼠 B16 黑色素瘤细胞和人 SMMC-7721 肝癌细胞具有明显的抑制作用,而且对内皮细也具有一定的抑制作用.半数抑制浓

度分别达 49.45 $\mu\text{g/ml}$, 54.22 $\mu\text{g/ml}$ 和 45.56 $\mu\text{g/ml}$.

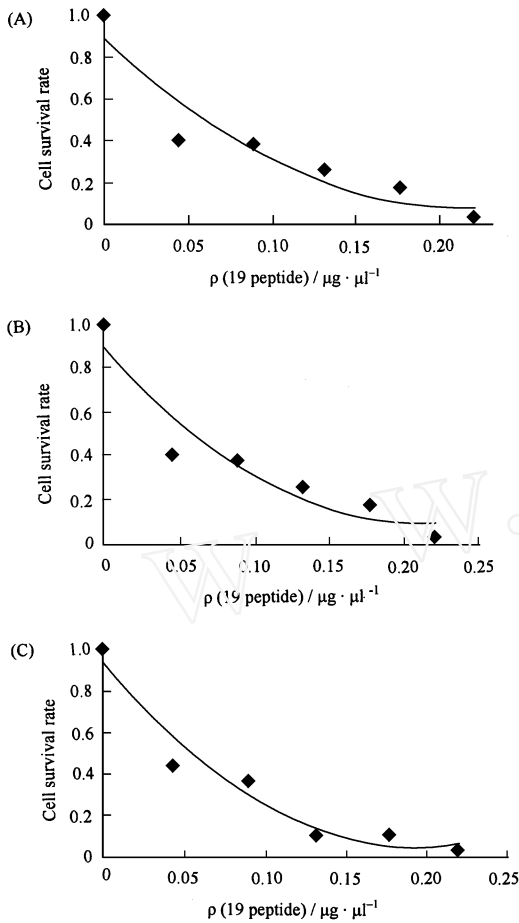


Fig. 5 MTT assay for three kinds of cell

(A) Curve of human SMMC-7721 hepatoma carcinoma cell survival rate and 19 peptide concentration. (B) Curve of human umbilical vein endothelial cell survival rate and 19 peptide concentration. (C) Curve of murine B16 melanoma cell survival rate and 19 peptide concentration

2.3.2 生长曲线 19 肽对 3 种细胞生长均有抑制作用. 其中对黑色素瘤细胞的抑制作用尤为明显, 加药后第 1 d 细胞就减少到无法计数. 对肝癌细胞生长的抑制作用较强, 在加药后第 3 d 细胞减少到无法计数. 而对内皮细胞生长的抑制作用较弱, 细胞生长曲线与对照组相似, 只是细胞数量比对照组减少一半 (Fig. 6).

2.3.3 细胞形态学观察 苏木素-伊红染色: 3 种细胞在油镜下均可见细胞核浓缩, 核仁断裂, 细胞表面有绒毛状突起. 19 肽可能对 3 种细胞有促凋亡作用 (Fig. 7).

2.4 19 肽动物体内抑瘤试验

2.4.1 小鼠肿瘤抑制实验 由 Fig. 8 可见, 对照组

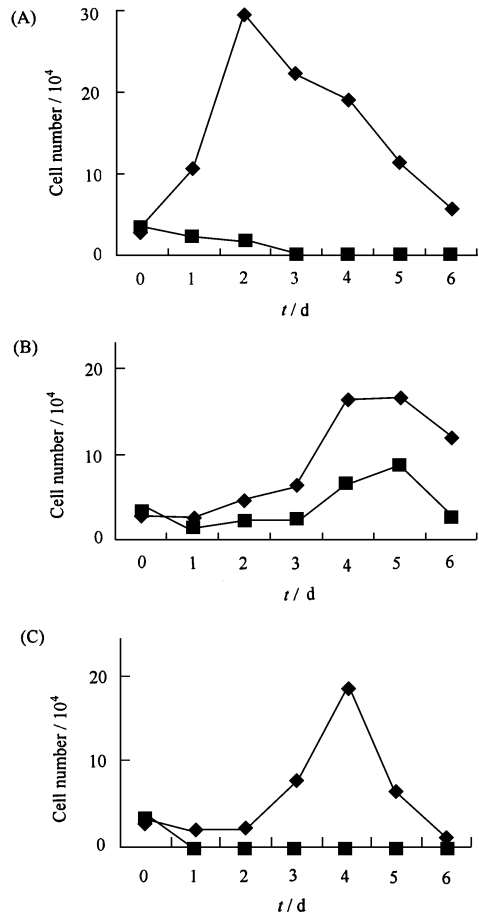


Fig. 6 Growth curve of three kinds of cell

Control — Experiment —

(A) Growth curve of human SMMC-7721 hepatoma carcinoma cell. (B) Growth curve of human umbilical vein endothelial cell. (C) Growth curve of murine B16 melanoma cell

与实验组小鼠肿瘤虽然继续生长, 但经过对两组小鼠肿瘤的瘤重和瘤大小的统计分析 (Table 1), 实验组与对照组差异显著 ($P < 0.05$). 19 肽抑瘤率可达 48.46 %.

Table 1 Effect of 19 peptide on tumor weight of murine ascitic fluid transfectant H22 hepatoma ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

	Tumor weight/g	Inhibition rate (%)
Control	2.5147 \pm 0.6247	
19 peptide	1.2962 \pm 0.5095 *	48.4551

* $P < 0.05$, compared with control group

2.4.2 小鼠肿瘤病理组织切片 由 Fig. 9 可见, 对照组血管数量比较丰富, 细胞形态正常, 无坏死区域. 实验组整个瘤组织仅一处视野可见少量血管, 大量血管消失, 组织出现大片坏死.

(A) (B) (C)

Fig. 7 The result of HE staining of three kinds of cell

(A) Hepatocarcinoma cells; (B) Human umbilical vein endothelial cells; (C) Murine B16 melanoma cells

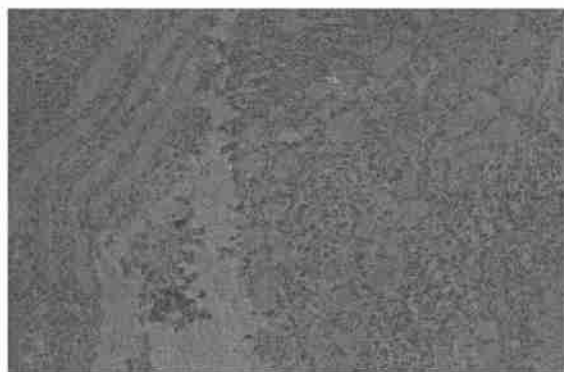
(A) (B)

Fig. 8 Effect of 19 peptide on tumor weight and tumor size of murine ascitic fluid transfevent H22 hepatoma

(A) Experiment; (B) Control

(A)

(B)

**Fig. 9** HE staining of ascitic fluid transfevent H22 hepatoma of mice (20 ×)

(A) Control; (B) Experiment

3 讨论

目前肿瘤的治疗药物依据其作用的靶细胞不同而分为两类^[5]. 一类作用于内皮细胞, 通过抑制新生血管的生成达到抗肿瘤目的. 另一类直接作用于肿瘤细胞, 促进肿瘤细胞凋亡. 通过抑制血管生成抗肿瘤的药物的优点而受到重视. 但血管生成抑制剂只限制肿瘤组织中的血管生成, 并不直接促进肿瘤细胞凋亡. 用药后肿瘤细胞因得不到血液供应而退回到原初状

态, 潜伏下来, 停药后这些肿瘤细胞还会重新生长. 因此, 应用血管生成抑制剂治疗肿瘤同时需要有促进肿瘤细胞凋亡的药物配合使用. 即使在抗血管生成抑制剂广泛用于临床后, 研究开发高效、低毒、直接抑制肿瘤细胞生长的抗肿瘤药物仍具有重要意义. 2000 年发现了肿瘤抑素的促肿瘤细胞凋亡作用^[2]. 由于分子量大, 本身又是肺-肾出血综合症的自身抗原, 肿瘤抑素不能直接在临床上应用. 进一步研究表明肿瘤抑素中的 19 肽在脱离肿瘤抑素独立存在的情况下, 才具有抗肿瘤活性. 位于 189~191 位的

-SNS-序列,构成了两个片层之间的转角结构,是19肽抗肿瘤的活性区^[6],在保持-SNS的空间结构不变的前提下,19肽的长度不影响其抗肿瘤活性^[7].我们采取基因克隆技术,构建了高水平表达19肽的大肠杆菌基因工程菌.19肽以融合蛋白形式表达,仅经过一步几丁质亲和层析即可纯化得到19肽.为进一步研究19肽的生物学活性和临床应用奠定了基础.

19肽属于小分子多肽,分子量小,在SDS-PAGE中观察不到电泳条带,为检测和鉴定带来了困难.我们实验中使用的载体和层析材料本身决定了层析中的第二个峰为纯化的19肽.用高效液相色谱检查19肽的纯度为90.83%.通过Bradford法绘制蛋白曲线得到19肽浓度.我们曾用这些方法纯化和检测重组成骨生长肽,取得满意结果^[4].体外培养的黑色素瘤细胞抑制实验结果也进一步证明了我们得到的是肿瘤抑素中的19肽.

文献报道,19肽对小鼠B16黑色素瘤细胞具有强抑制作用,而对其它肿瘤细胞的影响则需要进一步的实验验证^[8].我们做了基因重组19肽对小鼠黑色素瘤细胞和人肝癌细胞增殖的抑制实验.重组19肽对小鼠黑色素瘤细胞增殖的抑制作用极强.体外培养的小鼠黑色素瘤细胞中加入19肽1d后,活细胞即减少到无法计数的程度.结果与国外的报导相符.重组19肽对人SMMC-7721肝癌细胞增殖的抑制作用也十分明显.用药第3d,活细胞也减少到了无法计数的程度.提示19肽抑制肿瘤细胞增殖作用并非只限于小鼠黑色素瘤一种.19肽序列相对保守,人与鼠间不存在种属差异.19肽与肿瘤抑素中抗血管活性区tumr5在作用机制方面有一些共同之处^[9],提示我们19肽可能对内皮细胞增殖也有作用而影响肿瘤血管的生成.人脐静脉内皮细胞实验结果验证了这种推测.重组19肽对体外培养的人脐静脉内皮细胞增殖表现出一定的抑制作用.实验组细胞生长曲线与对照组相似但活细胞数比对照组减少了一半.小鼠皮下移植瘤病理切片中,19肽实验组与对照组比较,血管明显减少,则进一步证实了19肽对血管生成的抑制作用.

本实验采用小鼠腹水型转移型H22肝癌实体瘤模型检测19肽在动物体内的抑瘤效果,每日腹腔注射,用药7d,抑瘤率即达到48.46%.在内皮抑素抑制血管生成的研究中发现,内皮抑素在动物体内的抑制血管生成作用不如体外试验明显.19肽在小鼠体内的抑瘤效果与体外试验一样显著.小鼠腹水型转移型H22肝癌实体瘤模型造模方法简便、成功率

高,瘤体大小比较均一,不需使用裸鼠,成本低廉.抗肿瘤的小分子多肽大多序列保守,人鼠间的同源性高,在活性上大多不存在种属特异性.在不具备饲养裸鼠条件的实验室,在完成体外培养细胞的相关试验后,可首先选用小鼠腹水型转移型肝癌实体瘤模型进行动物体内的抑瘤实验,必要时再用人肿瘤细胞和裸鼠进行实验.

国外对于肿瘤抑素的抗肿瘤作用研究始于本世纪,国内近两年才有报道,主要集中在其对体内、外血管增生的抑制作用上.肿瘤抑素185~203位氨基酸组成的19肽在体内外都表现出确切的抑制肿瘤细胞生长的活性,同时对血管内皮细胞也有一定的抑制作用,有可能成为新的治疗肿瘤药物.19肽对其它肿瘤细胞的抑制作用是不是也像黑色素瘤和肝癌细胞一样明显?19肽对正常的体细胞有没有抑制作用?用19肽更长时间治疗肿瘤疗效能不能发生变化?这些问题有待于今后进行更深入的研究.

参考文献 (References)

- 1 Saus J, Wieslander J, Langeveld J P, Quinones S, Hudson B G. Identification of the goodpasture antigen as the alpha 3 () chain of collagen. *J Biol Chem*, 1988, **263**(26): 13374 ~ 13380
- 2 Maeshima Y, Colorado P C, Torre A, Hblthaus K A, Grunkemeyer J A, Ericksen M B, Hbpfier H, Xiao Y, Stillman I E, Kalluri R. Distinct antitumor properties of a type IV collagen domain derived from basement membrane. *J Biol Chem*, 2000, **275**(28): 21340 ~ 21348
- 3 Maeshima Y, Yerramalla U L, Dhanabal M, Holthaus K A, Barbashov S, Kharbanda S, Reimer C, Manfredi M, Dickerson W M, Kalluri R. Extracellular matrix-derived peptide binds to alpha (v) beta (3) integrin and inhibits angiogenesis. *J Biol Chem*, 2001, **276**(34): 31959 ~ 31968
- 4 余琼,周凌云,林雪松,徐建永,王淑静,刘兴汉.重组人成骨生长肽的表达、纯化和活性研究.中国生物化学与分子生物学报(Yu Qiong, Zhou Ling-Yun, Lin Xue-Song, Xu Jiann Yong, Wang Shu-Jing, Liu Xing-Han. Expression, purification and activity of recombinant human osteogenic growth peptide (rhOGP). *Chin J Biochem Mol Biol*), 2004, **20**(4): 467 ~ 472
- 5 Maeshima Y, Sudhakar A, Lively J C, Ueki K, Kharbanda S, Kahn C R, Sonenberg N, Hynes R O, Kalluri R. Tumstatin, an endothelial cell-specific inhibitor of protein synthesis. *Science*, 2002, **295**(5552): 140 ~ 143
- 6 Floquet N, Pasco S, Ramont L, Derreumaux P, Laronze J Y, Nuzillard J M, Maquart F X, Alix A J, Mbnboisse J C. The antitumor properties of the alpha3 ()-(185-203) peptide from the NCI domain of type collagen (tumstatin) are conformation dependent. *J Biol Chem*, 2004, **279**(3): 2091 ~ 2100
- 7 Kalluri R. Discovery of type collagen non-collagenous domains as novel integrin ligands and endogenous inhibitors of angiogenesis. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol*, 2002, **67**: 255 ~ 266

- 8 Maeshima Y, Colorado P C, Kalluri R. Two RGD-independent alpha v beta 3 integrin binding sites on tumstatin regulate distinct anti-tumor properties. *J Biol Chem*, 2000, **275**(31): 23745 ~ 23750
- 9 Maeshima Y, Manfredi M, Reimer C, Holthaus K A, Hopfer H, Chandamuri B R, Kharbanda S, Kalluri R. Identification of the anti-angiogenic site within vascular basement membrane-derived tumstatin. *J Biol Chem*, 2001, **276**(18): 15240 ~ 15248

第五届金属硫蛋白(Metallothionein, MT) 国际会议 将于 2005 年 10 月 8 ~ 12 日在北京召开

一、会议名称: The Fifth International Conference on Metallothionein 简称: MT-2005

主题: Metal and Metallothionein in Biology and Medicine

二、日期: 2005 年 10 月 8 ~ 12 日

三、地点: 中国 北京, 友谊宾馆

四、主办单位: 北京大学, 中国生物化学与分子生物学会, 中国毒理学会和加拿大毒理学会

五、会议名誉主席: JHR. Kagi 教授 (University of Zurich, Switzerland)

C. D. Klaassen 教授 (University of Kansas, USA)

会议主席: Binggen Ru 教授 (中国北京大学)

M. G. Cherian 教授 (University of Western Ontario, Canada)

六、会议规模: 共约 300 多人, 国外约 200 人

七、大会内容: 大会设有 Plenary Lecture, Symposium 和 Poster 三种形式进行学术交流

Plenary Lecture:

1. Dr. JHR Kagi (瑞士): Metallothionein and Gutathione, Yin and Yang in Cellular Zinc Assimilation

2. Dr. C. D. Klaassen (美国): Metallothionein and Metal Toxicity

3. Dr. Kazuo T. Suzuki (日本): Biological Roles of Metallothionein Based on Mercaptide Binding

Symposium:

. MT and Homeostasis of Zinc, Copper and Other Metal Ions and Related Diseases

. MT in Brain and Related Diseases

. Metals, MT and Tumors

. Metals, MT and Cardiovascular Diseases and Diabetes

. Metals, MT, and Liver, Kidney Diseases and Oxidative Stress

. MT-like Molecules in Other Organisms, Environmental Applications of MT

. Basic Research: Biochemistry, Molecular Biology, Structure and Function, Spectroscopic Studies, and Other Theoretical Studie on MT

Chinese Symposium (专为广大中国科学家设置的一个特殊报告会), 主题: "Progress of MT Research in China"

八、会议前重要日程安排:

第二轮通知: 2005 年 3 月 5 日

会议注册日期: 即日起 ~ 10 月 12 日

会议论文摘要截止日期: 2005 年 8 月 1 日

会议提交论文最终日期: 2005 年 10 月 9 日

九、会议注册费用: 只限中国代表 (RMB)

	2005.6.1 前	2005.9.1 前	2005.9.1 后
代表 (全部)	800RMB	1,000RMB	1,200RMB
代表 (一天)	200RMB	250RMB	300RMB
学生	500RMB	600RMB	700RMB
伴随人员	300RMB	350RMB	400RMB

十、会议摘要、墙报和论文有关通知, 详见网站

会议选择其中优秀论文摘要制成正式学术论文, 分别在 "Experimental Biology and Medicine" (IF 2.460) 和 "生物化学与生物物理学报" (IF 0.524) 以专刊形式 (英文版) 发表

十一、旅游: 大会组织长城和故宫, 其它旅游详见网站

十二、展览: 会议同时将举办有关仪器、设备、试剂、药品和营养品的展示会, 详见网站

十三、住宿: 北京友谊宾馆, 详见网站

因为这是首次在中国召开的有关 MT 会议, 又是一次国际盛会, 将有国际上许多著名专家、学者前来参加, 并作相关领域的热点专题报告, 欢迎国内外学者和有关单位、企业积极参加, 可详见网站, 如要索取第二轮通知可以以下方式联系:

MT-2005 会议筹备组: 北京大学生命中心楼 305 室, 100871

联系人: 韩铁钢、茹炳银

电话: 010-62756969/62751842, Fax: 010-62751842, Email: rulab@pku.edu.cn, 网站: <http://www.MT-2005.org>