

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.01570

# 成年大脑神经细胞特异性 *ADAM10* 基因敲除小鼠模型的建立与鉴定

刘军, 周常文, 韦秋兰, 庄建龙, 林焯华, 郑杰辉

福建医科大学基础医学院细胞生物学与遗传学系, 细胞与发育工程研究中心, 干细胞工程与再生医学福建省高校重点实验室, 福州 350004

**摘要:** 去整合素和金属蛋白酶 10(*ADAM10*)是一种能够水解 30 余种跨膜蛋白质的“脱落酶”(shedase), 参与诸多生理过程和致病机制, 如胚胎发育、细胞粘附、信号转导、免疫反应、癌症和阿尔茨海默病。迄今, 已报道的*ADAM10* 完全基因敲除小鼠和大脑神经前体细胞特异性*ADAM10* 基因敲除小鼠分别于胚胎期或围产期死亡, 致使无法研究成年小鼠大脑神经细胞*ADAM10* 基因的功能。文章利用本研究小组建立的*CaMKII $\alpha$ -Cre*转基因小鼠与*ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>*转基因小鼠杂交, 获得了*CaMKII $\alpha$ -Cre/ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>*小鼠, 并对其进行鉴定。利用 PCR 方法检测成年*ADAM10* cKO 小鼠大脑基因组 DNA 表明, *ADAM10* 基因缺失主要发生在前脑皮层和海马中。荧光定量 PCR 检测结果显示, *ADAM10* mRNA 的表达水平在前脑皮层和海马中分别降低 55.7% 和 60.8%; 使用 Western blotting 方法研究发现, *ADAM10* 成熟蛋白质的含量在前脑皮层和海马中分别减少 63% 和 84.8%。采用免疫组织化学方法检测表明, 成年*ADAM10* cKO 小鼠与野生型小鼠相比, 其大脑皮层和海马神经细胞的*ADAM10* 免疫染色明显减弱, 而其它细胞如胶质细胞的免疫染色基本一致。总之, 文章成功制备了首个存活至成年的大脑神经细胞特异性*ADAM10* 基因敲除(cKO)小鼠, 克服了小鼠因*ADAM10* 缺失在胚胎期或围产期死亡的弊端, 为研究成年小鼠大脑神经细胞*ADAM10* 基因的功能奠定了坚实的基础。

**关键词:** *ADAM10*; 条件性基因敲除; 转基因小鼠; Western blotting; 免疫组化实验

## Generation and characterization of the adult neuron-specific *ADAM10* knock-out mice

LIU Jun, ZHOU Chang-Wen, WEI Qiu-Lan, ZHUANG Jian-Long, LIN Zhao-Hua, ZHENG Jie-Hui

Department of Cell Biology and Genetics, School of Basic Medicine / Center of Cell and Developmental Biology / Provincial Key Laboratory of Stem Cell and Regenerative Medicine, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China

收稿日期: 2012-03-26; 修回日期: 2012-05-03

基金项目: 福建省自然科学基金项目(编号: 2010j01171)和福建医科大学科研发展基金项目(编号: XZ04005)资助

作者简介: 刘军, 硕士研究生, 专业方向: 遗传学。E-mail: 290178077@qq.com

通讯作者: 周常文, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 功能基因组学。E-mail: zhouchangwen624@sina.com

致谢: 福建医科大学江一平教授和朱元贵老师在实验过程中给予了大量帮助, 在此表示诚挚的感谢!

网络出版时间: 2012/8/9 10:45:07

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20120809.1045.002.html>

**Abstract:** A disintegrin and metalloproteinase 10 (*ADAM10*) is a major sheddase for over 30 different membrane proteins and gets involved in such physiological processes and pathogenesis as embryonic development, cell adhesion, signal transduction, immune reaction, cancer, and Alzheimer's disease. Both *ADAM10* knock-out mice and the neural progenitor cell-specific *ADAM10* knock-out mice having been reported so far died in the embryonic or perinatal stage, respectively, thus resulting in the failure to investigate *ADAM10* function in the adult mouse brain. Through a series of tests, we have succeeded in generating and characterizing the *CaMKII $\alpha$ -Cre/ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>* mice surviving until adulthood by means of crossing *ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>* mice with newly generated *CaMKII $\alpha$ -Cre* transgenic mice. PCR analysis of genomic DNAs from different regions of the *ADAM10* cKO mouse brain shows that the deleted *ADAM10* alleles are mainly found in the cortex and hippocampus. Real-time RT-PCR findings further confirm that *ADAM10* mRNAs decrease in the cortex and hippocampus by 55.7% and 60.8%, respectively. Western-blotting analysis demonstrates 63% and 84.8% loss of mature *ADAM10* proteins from the cortex and hippocampus. Immunohistochemical tests show that there is significantly less *ADAM10*-positive staining in the cortical and hippocampal neurons but not gliocytes of *ADAM10* cKO mice compared with control mice. In summary, we established the adult neuron-specific *ADAM10* knock-out (cKO) mice for the first time, which prevented *ADAM10*<sup>-/-</sup> mice from the embryonic and perinatal mortality and laid a firm foundation for the further study of *ADAM10* function in the brain of adult mice *in vivo*.

**Keywords:** *ADAM10*; conditional gene knock-out; transgene mice; Western blotting; immunohistochemistry

去整合素和金属蛋白酶 10 (*ADAM10*)是一种大约由 750 个氨基酸组成的I型跨膜蛋白 酶。它具有一个大的膜外结构域,一个跨膜结构域和一个富含脯氨酸的细胞质结构域。目前研究表明,*ADAM10* 水解的跨膜蛋白质多达 30 余种,例如 Notch、 $\beta$ -cellulin、klotho和N-钙粘蛋白、Ephrins和淀粉样前体蛋白(APP)<sup>[1-4]</sup>。并且,直接或间接影响的基因多达 300 余种,它不仅参与个体的生长与发育、细胞通讯、突触连接和免疫反应等生理过程,还与 Alzheimer 病(AD)和肿瘤等的发病机制密切相关<sup>[5,6]</sup>。此外,*ADAM10* 蛋白本身被水解可能还参与了基因的表达与调控<sup>[7,8]</sup>。

建立基因敲除动物模型是在整体水平上研究基因功能最为有效的方式之一<sup>[9]</sup>。目前,虽然国内外已建立了 6 种*ADAM10* 基因敲除小鼠模型<sup>[4,10-16]</sup>,但是,针对中枢神经系统 *ADAM10* 基因功能研究的 *ADAM10* 完全基因敲除小鼠和神经前体细胞特异性 *ADAM10* 条件性基因敲除小鼠却分别于胚胎期和围产期死亡<sup>[4,16]</sup>。为了克服神经细胞*ADAM10* 基因敲除致死的缺陷,本研究小组利用已制备的*CaMKII $\alpha$ -Cre*转基因小鼠与*ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>*转基因小鼠杂交,获得了成年的*CaMKII $\alpha$ -Cre/ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>*小鼠,并从DNA、RNA和蛋白质 3 个水平对该小鼠进行鉴定,

成功建立了成年神经细胞特异性*ADAM10* 基因敲除小鼠模型,从而为后续的*ADAM10* 基因功能研究奠定了基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

*CaMKII $\alpha$ -Cre*转基因小鼠由本研究小组自制。*ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>*转基因小鼠由上海复旦大学发育生物学研究所庄原教授和吴晓晖教授馈赠<sup>[15]</sup>。所有小鼠均饲养于福建医科大学实验动物中心。KOF、KOB和EKOB引物序列参考Tian等<sup>[15]</sup>报道的序列,F1/R1、F2/R2、A10F/A10R和 $\beta$ F/ $\beta$ R等引物序列为自行设计,所有引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 *ADAM10* 基因敲除小鼠的制备与基因型鉴定

将本实验室自制的*CaMKII $\alpha$ -Cre*转基因小鼠 与 *ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>*小鼠杂交,获得*CaMKII $\alpha$ -Cre/ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>*双转基因小鼠。小鼠出生后 10~14 d 取鼠尾,加入 500  $\mu$ L 组织裂解液(0.5%SDS, 0.1 mol/L NaCl, 0.05 mol/L EDTA, 0.01 mol/L Tris-HCl, pH 8.0),每管加 5  $\mu$ L 50 mg/mL蛋白酶K, 55 保温过

表 1 引物序列

引物名称	引物序列 (5'→3')	产物长度
KOF	CCTCTTAGCGATACCAAGCC	2.4 kb/1.6 kb
KOB	CCAAGCGTCAAAGCGTTACAG	
EKOB	CCATGGAAGTGTCCTCTTCATTCGTAGG	1.2 kb/1.0 kb
F1	GGAAAACAGGGCGTTTCGGAGG	
R1	CGACCAGTTTAGTTACCCCCAGGCT	975 bp
F2	GTTTCACTGGTTATGCGGCGG	
R2	CTGCTTCCTTCACGACATTCAACA	918 bp
A10F	CCTACGAATGAAGAGGGACAC	
A10R	TGACAGACCCATGACTAAAGC	150 bp
βF	TACGCCAACACAGTGCTGTCTG	
βR	CTGCTTGCTGATCCACATCTGC	200 bp

夜。然后,用酚-氯仿抽提,ddH<sub>2</sub>O溶解,分光光度计定量,-20℃保存。制备的基因组DNA作为PCR模板,以引物F1/R1或者F2/R2鉴定Cre重组酶基因型,产物长度分别为975 bp和918 bp。以引物KOF/EKOB鉴定loxP标记的ADAM10基因型,野生型产物长度为1.2 kb,loxP标记产物为950 bp。PCR扩增条件为:95℃ 5 min,95℃ 30 s,62℃ 30 s,72℃ 1.5 min,35个循环,72℃ 10 min,10℃ 保温。

### 1.2.2 PCR 鉴定 ADAM10 基因重组

以胚胎期18 d和24周龄的ADAM10基因敲除(Conditional knock out, cKO)小鼠和对照小鼠的基因组DNA为模板,以引物KOF和KOB进行PCR。由于Cre/loxP系统能够将loxP标记的ADAM10基因第三外显子DNA去除,所以ADAM10基因重组前产物长度为2.4 kb,重组后长度为1.6 kb,以此鉴定DNA水平上的基因重组。PCR扩增条件为:95℃ 5 min,95℃ 30 s,64℃ 30 s,72℃ 2 min,35个循环,72℃ 10 min,10℃ 保温。

### 1.2.3 Real-time RT-PCR 鉴定

取24周龄的CaMKIIα-Cre/ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>小鼠的前脑皮层和海马各100 mg,以TRIzol(10296-010, Invitrogen)抽提总RNA,紫外分光光度仪测定总RNA含量。用无RNaseI的DNaseI(DN-0521, Fermentas)去除其中的DNA污染,以A10F/A10R为引物扩增目的基因,产物长度为150 bp;以引物βF/βR扩增内参基因,产物长度为200 bp。参照一步法定量RT-PCR试剂盒(TaKaRa, DDR096A)说明书,在

one-step Real-time PCR(ABI)仪上检测ADAM10基因表达的mRNA CT值。每组3只小鼠,以2<sup>-ΔΔCT</sup>相对定量分析实验组和对照组的差别,数据取平均值作图。

### 1.2.4 Western blotting 鉴定

取24周龄的CaMKIIα-Cre/ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>纯合子和ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>纯合子小鼠的前脑皮层和海马组织30 mg,加入400 μL RIPA裂解液(P0013B, 碧云天生物技术有限公司)于EP管中,超声,然后离心,取上清,提取总蛋白。以BCA试剂盒(P0010s, 碧云天生物技术有限公司)测定蛋白质浓度,取25 μg蛋白进行SDS-PAGE凝胶电泳(100 V),PVDF膜(Bio-Rad)转膜,加ADAM10特异性抗体(Abcam, ab1997, 1:1000)4℃过夜,TBST洗涤后,山羊抗兔二抗37℃孵育,TBST洗涤,以ECL试剂盒(鹭荣生物技术有限公司)暗室曝光检测。

### 1.2.5 免疫组化分析

分别取12月龄的CaMKIIα-Cre/ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>纯合子和ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>纯合子小鼠,心脏灌流后取大脑于4%多聚甲醛中固定24 h,石蜡包埋,切片,捞片后,切片在58~60℃的恒温箱中放置2~6 h。然后脱蜡和水化,PBS洗3 min×2次;滴加0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>甲醇液,室温处理20 min,PBS洗3 min×3次;高压修复5 min,PBS洗3 min×3次;加正常山羊血清,室温20 min,倾去多余血清,不洗;滴加ADAM10特异性抗体(一抗)4℃孵育过夜,PBS洗3 min×3次;酶标记抗体(二抗)37℃孵育40 min,PBS洗3 min×3

次; DAB/  $H_2O_2$  显色 8~12 min, 镜下控制; 充分水洗, 苏木精复染, 盐酸乙醇分化 15~30 s; 常规树脂封片, 结果观察。

## 2 结果与分析

### 2.1 成年大脑神经细胞特异性 *ADAM10* cKO 小鼠模型的制备

本研究小组在前期工作中构建了 *CaMKII $\alpha$ -Cre* 表达载体<sup>[17]</sup>, 经过受精卵原核显微注射获得 *CaMKII $\alpha$ -Cre* 转基因小鼠, 经过遗传育种和 PCR 鉴定, 获得了 3 个稳定遗传的 *CaMKII $\alpha$ -Cre* 转基因小鼠鼠系。本研究利用该 *CaMKII $\alpha$ -Cre* 转基因小鼠与 *ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>* 转基因小鼠杂交, 获得了 *CaMKII $\alpha$ -Cre/ADAM10<sup>loxP/+</sup>* *ADAM10* 基因敲除杂合子小鼠。然后, 将该杂合子小鼠与 *ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>* 小鼠杂交, 获得了 *CaMKII $\alpha$ -Cre/ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>* *ADAM10* 基因敲除纯合子小鼠。

### 2.2 PCR 检测 *ADAM10* 基因重组

用 PCR 检测 18 d 龄的 *CaMKII $\alpha$ -Cre/ADAM10<sup>loxP/+</sup>*、*CaMKII $\alpha$ -Cre/ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>* 和 *ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>* 小鼠胚胎大脑基因组 DNA, 未发现 1.6 kb 重组条带, 说明 *CaMKII $\alpha$ -Cre* 介导的 *ADAM10* 基因重组具有严格的时间特异性(图 1)。以 PCR 检测 24 周龄的上述 3 种小鼠前脑皮层和海马的基因组 DNA, 结果显示, *CaMKII $\alpha$ -Cre/ADAM10<sup>loxP/+</sup>* 小鼠的前脑和海马 1.6 kb 重组片段较少; 而在 *CaMKII $\alpha$ -Cre/ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>* 小鼠的前脑和海马中主要为 1.6 kb 重组片段, 重组效率较高; 在 *ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>* 小鼠的前脑和海马均无重组片段(图 2)。

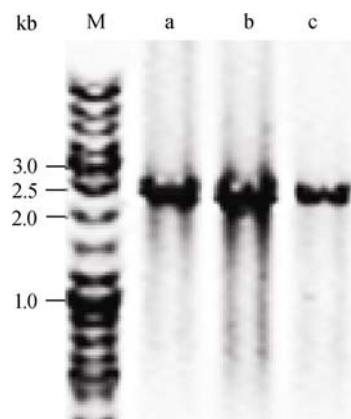


图 1 18 d 龄小鼠胚胎全脑 *ADAM10* 基因重组

M : DNA Ladder(Fermentas); a~c 分别代表 *CaMKII $\alpha$ -Cre/ADAM10<sup>loxP/+</sup>*、*CaMKII $\alpha$ -Cre/ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>*和 *CaMKII $\alpha$ -Cre/ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>*。

### 2.3 Real-time RT-PCR 检测 *ADAM10* mRNA 表达量

Real-time RT-PCR 实验结果显示, 与对照小鼠相比, *ADAM10* cKO 小鼠前脑皮层和海马的 *ADAM10* mRNA 表达量分别减少了 55.7%和 65.13%, 说明 *ADAM10* 基因剔除后, 其 mRNA 表达量明显下降(图 3)。

### 2.4 Western blotting 结果

用 Western blotting 方法检测 *ADAM10* cKO 小鼠和对照小鼠前脑皮层和海马的 *ADAM10* 蛋白表明, cKO 小鼠 *ADAM10* 前体蛋白和成熟蛋白明显减少, 其中, *ADAM10* 成熟蛋白在大脑皮层和海马分别减少 63%和 84.8%。由此可见, *CaMKII $\alpha$ -Cre* 转基因小鼠介导的 *ADAM10* 条件基因敲除, 导致了小鼠前脑皮层和海马 *ADAM10* 蛋白含量明显降低。

### 2.5 免疫组化结果

免疫组化结果显示, *ADAM10* cKO 小鼠大脑皮

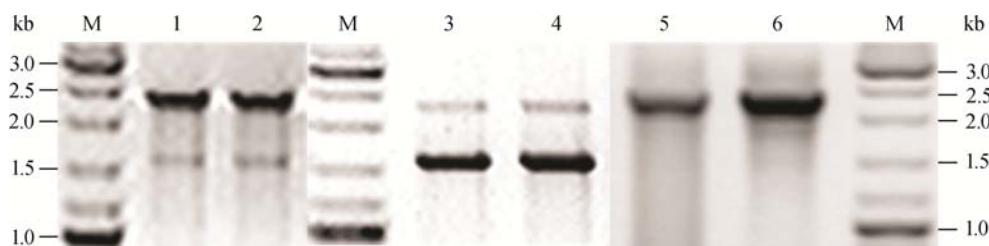


图 2 24 周龄小鼠前脑皮层和海马 *ADAM10* 基因重组

M : DNA Ladder; 1~6 分别代表 *CaMKII $\alpha$ -Cre/ADAM10<sup>loxP/+</sup>* 小鼠、*CaMKII $\alpha$ -Cre/ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>* 小鼠、*ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>* 小鼠的前脑皮层和海马。



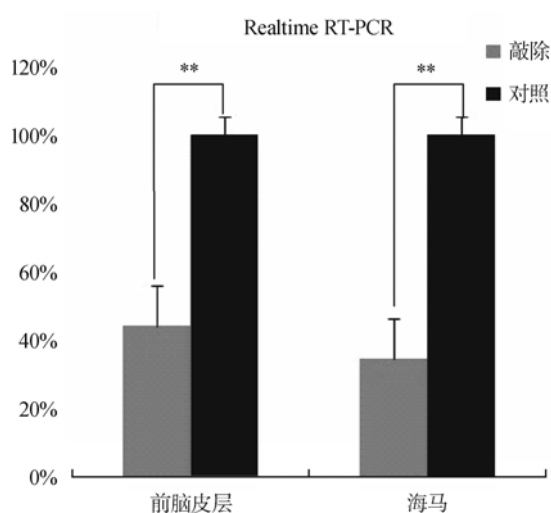


图 3 *ADAM10* 基因敲除后其 mRNA 的表达量

\*表示以 T 检验统计  $P < 0.05$ ,  $n=3$ 。

层和海马的 ADAM10 棕色阳性信号明显弱于对照小鼠。在 *ADAM10* cKO 小鼠大脑中, 神经细胞、海马锥状神经细胞和颗粒细胞等几乎无棕色标记; 而在对照小鼠大脑中, 皮层的神经细胞、海马的锥状神经细胞和颗粒细胞均可见明显的棕色阳性信号。但是, 两种小鼠大脑皮层的胶质细胞均有微弱的棕色阳性信号(图 5)。由此可见, *ADAM10* 基因缺失后, 大脑皮层神经细胞和海马锥状神经细胞膜上的

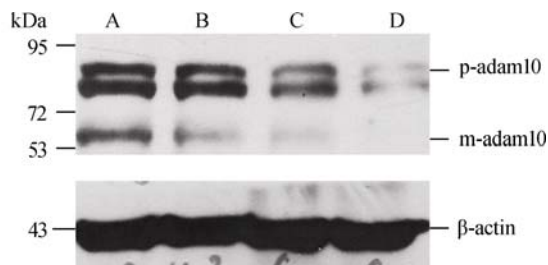


图 4 *ADAM10* cKO 小鼠前脑皮层和海马中 ADAM10 蛋白的含量

A, B 分别为 *ADAM10*<sup>loxP/loxP</sup> 小鼠前脑皮层和海马; C, D 分别为 *CaMKIIα-Cre/ADAM10*<sup>loxP/loxP</sup> 小鼠前脑皮层和海马。p-adam10: ADAM10 前体蛋白, m-adam10: ADAM10 成熟蛋白。

ADAM10 蛋白明显减少, 而胶质细胞变化不大, 说明 *ADAM10* 基因敲除具有较强的神经细胞特异性。

### 3 讨论

对于在整体水平上研究中枢神经系统 ADAM10 基因的功能而言, *ADAM10* 完全基因敲除小鼠因中枢神经系统、体节和心血管系统发育缺陷而于胚胎期 9.5 d 死亡 [16]。为了克服小鼠胚胎致死的缺点, Jorissen 等 [4] 于 2010 年利用 *Nestin-Cre* 转基因小鼠, 建立了神经前体细胞特异性 *ADAM10* 条件性基因敲除小鼠, 然而, 由于大脑皮层发育紊乱、神经前体细

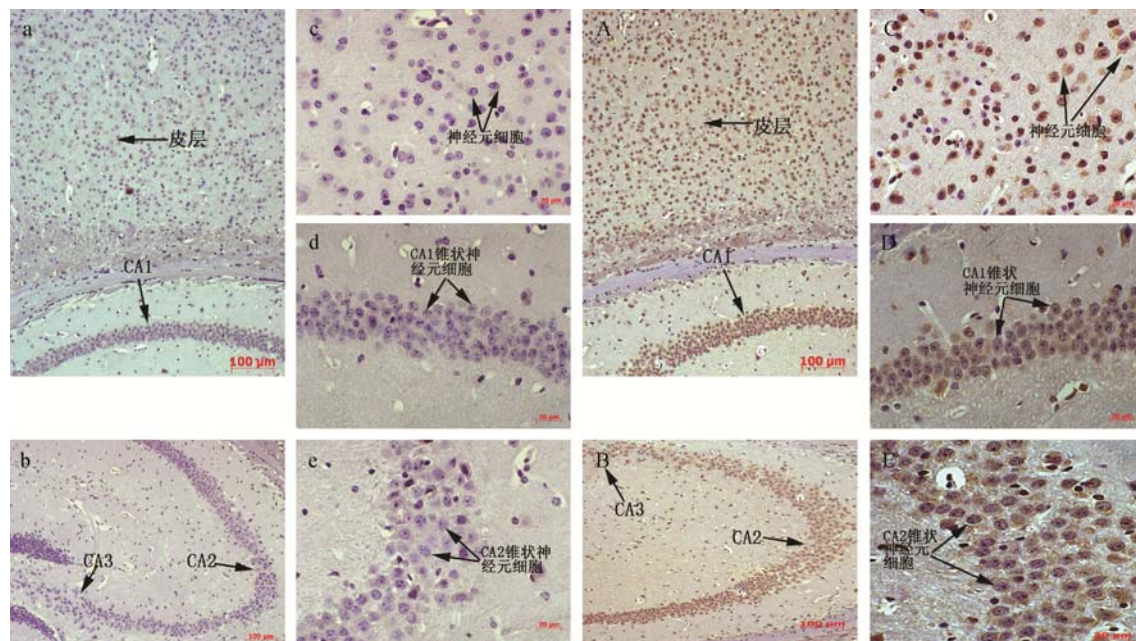


图 5 小鼠大脑 ADAM10 蛋白免疫组化染色

a~c 为 *ADAM10* cKO 小鼠大脑样本, A~E 为 *ADAM10*<sup>loxP/loxP</sup> 纯合子对照小鼠。

胞提前分化引起神经节明显缩小导致小鼠在围产期死亡。为了研究 *ADAM10* 基因在成年小鼠大脑中的功能, 本研 究小组利用前期建立的 *CaMKII $\alpha$ -Cre* 转基因小鼠与 *ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>* 转基因小鼠杂交, 制备了首个存活至成年的大脑神经细胞特异性 *ADAM10* 基因敲除小鼠, 避免了前期报道的 *ADAM10* 基因敲除导致小鼠死亡的缺陷。

本研究采用 PCR、Real-time RT-PCR、Western blotting 和免疫组化 4 种方法对 *CaMKII $\alpha$ -Cre/ADAM10<sup>loxP/loxP</sup>* 小鼠的 *ADAM10* 基因敲除效率和时空特异性进行了详细的分析。RT-PCR 结果表明, *ADAM10* cKO 小鼠相对于对照小鼠, 大脑皮层和海马中的 *ADAM10* mRNA 表达水平分别降低了 55.7% 和 65.13%。而蛋白质水平鉴定的结果表明, *ADAM10* 成熟蛋白在大脑皮层和海马分别减少 63% 和 84.8%, 两种方法的检测结果基本一致。该小鼠模型的 *ADAM10* 基因敲除效率未达到 100%, 究其原因可能是由于 *ADAM10* 基因重组主要发生在大脑神经细胞, 而在神经胶质细胞和其它辅助细胞未发生重组所致。免疫组化的实验结果验证了这一点, *ADAM10* 蛋白的缺失主要发生在皮层神经元细胞, 海马锥状神经元细胞和颗粒细胞中, 这充分证明了我们建立的 *ADAM10* 基因敲除小鼠模型具有良好的空间特异性。

通过观察本研究建立的 *ADAM10* cKO 小鼠发现, 其癫痫的发生率明显增加, 高龄 *ADAM10* cKO 小鼠还表现为类似 AD 的表型。结合相关文献分析, 癫痫的发生可能与 *ADAM10* 基因缺失引起 *Notch* 信号转导途径失活, 从而导致大脑海马发育异常以及细胞分化异常有关。据报道, *ADAM10* 蛋白酶能够水解 APP 产生 APPs $\alpha$  和 P3 肽,  $\alpha$  分泌酶能够水解 APP 产生 APPs $\beta$  和 A $\beta$  肽, *ADAM10* 缺失后会导致  $\beta$  分泌酶水解 APP 增多, 引起 A $\beta$  在大脑中积累。因此, AD 类似表型的出现可能与 A $\beta$  积累增多有关。相关表型的详细发生机制还有待进一步观察与研究。

## 参考文献(References):

- [1] Pruessmeyer J, Ludwig A. The good, the bad and the ugly substrates for ADAM10 and ADAM17 in brain pathology, inflammation and cancer. *Semin Cell Dev Biol*, 2009, 20(2): 164–174. [DOI](#)
- [2] Lichtenthaler SF. Alpha-secretase in Alzheimer's disease: molecular identity, regulation and therapeutic potential. *J Neurochem*, 2011, 116(1): 10–21. [DOI](#)
- [3] Kuhn PH, Wang HH, Dislich B, Colombo A, Zeitschel U, Ellwart JW, Kremmer E, Roßner S, Lichtenthaler SF. ADAM10 is the physiologically relevant, constitutive  $\alpha$ -secretase of the amyloid precursor protein in primary neurons. *EMBO J*, 2010, 29(17): 3020–3032. [DOI](#)
- [4] Jorissen E, Prox J, Bernreuther C, Weber S, Schwanbeck R, Serneels L, Snellinx A, Craessaerts K, Thathiah A, Tesseur I, Bartsch U, Weskamp G, Blobel CP, Glatzel M, De Strooper B, Saftig P. The disintegrin/metalloproteinase ADAM10 is essential for the establishment of the brain cortex. *J Neurosci*, 2010, 30(14): 4833–4844. [DOI](#)
- [5] Kim M, Suh J, Romano D, Truong MH, Mullin K, Hooli B, Norton D, Tesco G, Elliott K, Wagner SL, Moir RD, Becker KD, Tanzi RE. Potential late-onset Alzheimer's disease-associated mutations in the *ADAM10* gene attenuate  $\alpha$ -secretase activity. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(20): 3987–3996. [DOI](#)
- [6] Prinzen C, Trümbach D, Wurst W, Endres K, Postina R, Fahrenholz F. Differential gene expression in ADAM10 and mutant ADAM10 transgenic mice. *BMC Genomics*, 2009, 10: 66. [DOI](#)
- [7] Parkin E, Harris B. A disintegrin and metalloproteinase (ADAM)-mediated ectodomain shedding of ADAM10. *J Neurochem*, 2009, 108(6): 1464–1479. [DOI](#)
- [8] Toussey T, Thathiah A, Jorissen E, Raemaekers T, Konietzko U, Reiss K, Maes E, Snellinx A, Serneels L, Nyabi O, Annaert W, Saftig P, Hartmann D, De Strooper B. ADAM10, the rate-limiting protease of regulated intramembrane proteolysis of Notch and other proteins, is processed by ADAMS-9, ADAMS-15, and the gamma-secretase. *J Biol Chem*, 2009, 284(17): 11738–11747. [DOI](#)
- [9] 尹海芳, 李宁, 王秋菊. 基因敲除鼠疾病模型的研究进展. *遗传*, 2002, 24(4): 463–469. [DOI](#)
- [10] Altmeyden HC, Prox J, Puig B, Kluth MA, Bernreuther C, Thurm D, Jorissen E, Petrowitz B, Bartsch U, de Strooper B, Saftig P, Glatzel M. Lack of a-disintegrin-and-metalloproteinase ADAM10 leads to intracellular accumulation and loss of shedding of the cellular prion protein *in vivo*. *BMC Mol Neurodegener*, 2011, 6: 36. [DOI](#)
- [11] Weber S, Niessen MT, Prox J, Lüllmann-Rauch R, Schmitz A, Schwanbeck R, Blobel CP, Jorissen E, de Strooper B, Niessen CM, Saftig P. The disintegrin/metalloproteinase Adam10 is essential for epidermal integrity and Notch-mediated signaling. *Development*, 2011, 138(3): 495–505. [DOI](#)
- [12] Zhang C, Tian L, Chi CW, Wu XH, Yang X, Han M, Xu T, Zhuang Y, Deng KJ. *Adam10* is essential for early embryonic cardiovascular development. *Dev Dyn*, 2010, 239(10): 2594–2602. [DOI](#)
- [13] Glomski K, Monette S, Manova K, de Strooper B, Saftig P,

- Blobel CP. Deletion of Adam10 in endothelial cells leads to defects in organ-specific vascular structures. *Blood*, 2011, 118(4): 1163–1174. [DOI](#)
- [14] Gibb DR, El Shikh M, Kang DJ, Rowe WJ, El Sayed R, Cichy J, Yagita H, Tew JG, Dempsey PJ, Crawford HC, Conrad DH. ADAM10 is essential for Notch2-dependent marginal zone B cell development and CD23 cleavage *in vivo*. *J Exp Med*, 2010, 207(3): 623–635. [DOI](#)
- [15] Tian L, Wu XH, Chi CW, Han M, Xu T, Zhuang Y. ADAM10 is essential for proteolytic activation of Notch during thymocyte development. *Int Immunol*, 2008, 20(9): 1181–1187. [DOI](#)
- [16] Hartmann D, de Strooper B, Serneels L, Craessaerts K, Herreman A, Annaert W, Umans L, Lübke T, Lena Illert A, von Figura K, Saftig P. The disintegrin/metalloprotease ADAM 10 is essential for Notch signalling but not for alpha-secretase activity in fibroblasts. *Hum Mol Genet*, 2002, 11(21): 2615–2624. [DOI](#)
- [17] 徐瑛, 周常文, 林绍华, 柯琦. CaMK II  $\alpha$  基因启动子的克隆和神经细胞特异性 Cre 表达载体的构建. *中国优生与遗传杂志*, 2008, 16(3): 42–44. [DOI](#)

## • 综合信息 •

### “全国生物遗传多样性高峰论坛”在昆明举行

由中国遗传学会、中国动物学会、中国植物学会和中国微生物学会主办, 云南省科协与中国科学院遗传发育所等单位协办, 《遗传》编辑部 and 云南省遗传学会承办的“全国生物遗传多样性高峰论坛”于 2012 年 11 月 30 日-12 月 1 日在昆明云安会都隆重举行, 来自全国 24 个省、市、自治区和香港特别行政区从事遗传多样性相关研究的专家学者及研究生共 230 余人参加了本届论坛。中国遗传学会常务理事、云南省遗传学会理事长、《遗传》编委会副主编褚嘉祐研究员主持开幕式, 中国科学院副院长、大会主席张亚平院士发来贺词, 中国科学院院士杨焕明致开幕词, 云南省科协学会部副部长刘耘致欢迎词。他们一致表示, 要认真学习 and 贯彻党的十八大精神, 提高公众保护生物多样性的意识, 建设生态文明, 为全面建成小康社会而努力!

大会的院士报告由中国科学院遗传与发育生物学研究所副所长、《遗传》执行主编张永清研究员主持。中国农业大学动物科技学院吴常信院士就“畜禽遗传资源保护与畜牧业可持续发展”、深圳华大基因研究院杨焕明院士围绕“人类基因组计划、基因组学和生物学世纪”作大会报告。会场上座无虚席, 大家十分珍惜与院士面对面接触、交流和请教的机会, 踊跃提问, 两位院士精彩的报告和认真而风趣的解答, 一次次赢得热烈的掌声, 将会场上的气氛推向高潮。

在随后进行的大会报告中, 中国医学科学院医学生物学研究所褚嘉祐研究员探讨了“中国不同民族遗传多样性的自然科学和社会科学意义”、中国科学院昆明动物研究所姚永刚研究员阐述了“Leber 遗传性视神经病变研究进展和挑战”、卫生部老年医学研究所杨泽研究员报告了“遗传差异与老年痴呆症的临床研究进展”、中国科学院遗传发育所李巍研究员阐述了“人类和动物毛色多样性与白化病的遗传机制”、全国畜牧总站刘丑生研究员介绍了“我国国家畜禽基因库的现状和前景”、辽宁师范大学李庆伟教授介绍了“七鳃鳗的比较免疫学与进化”、上海海洋大学李家乐教授介绍了“草鱼遗传多样性研究与利用”、厦门大学王义权教授介绍了“文昌鱼的养殖与发育生物学研究”、香港中文大学邵鹏柱教授介绍了“基因资源在中药材分子鉴定的应用”、南昌大学朱友林教授报告了“大豆功能基因的单核苷酸多态性”、浙江大学石春海教授介绍了“水稻‘9311’和‘日本晴’植株和稻米突变体库的构建和利用”、河北农业大学刘国振教授汇报了“水稻蛋白质抗体资源库和表达谱数据库构建的探索”、云南大学邹成钢教授介绍了“微生物与宿主的相互作用”。此外, 美国贝克曼库尔特公司和 Affymetrix 公司的专家作了最新技术报告。

在分组报告中, 30 余位研究人员分别在“人类与灵长类遗传学”、“哺乳动物遗传与进化”、“水产动物遗传学”、“植物遗传多样性”和“微生物遗传学”等会场进行了交流。报告的专家学者汇报了各自的研究成果与工作进展, 探讨生物遗传多样性的保护和利用的重要性。这次“全国生物遗传多样性高峰论坛”的举办, 提高了保护和合理利用生物多样性的意识, 交流了新技术、新进展, 论坛达到了预期目的。

本次论坛收到征文 50 余篇, 摘要 20 余篇, 出版了会议论文摘要集。2012 年第 11 期《遗传》杂志专门为本次会议组织出版了“遗传多样性研究专刊(上)”, 共发表遗传多样性方面的综述 5 篇, 研究论文 8 篇, 技术与方法 2 篇, 受到与会者的欢迎。2013 年春季, 《遗传》还将出版“遗传多样性研究专刊(下)”, 进一步集中报道相关领域的研究成果与进展。

会后, 170 名与会代表分成两组到云南民族村、昆明西山和云南石林进行了实地考察, 了解云南少数民族分布、风土人情及昆明周边地区的生物多样性分布状况。大家对于“少数民族最多的省份”、“动物王国”和“植物王国”加深

了印象，对于保护生物多样性和建设美丽中国的前景充满了信心！