TPO 模拟肽与人 IgG1Fc 融合蛋白在毕赤酵母中的表达及活性鉴定

叶祥忠 郭 强 李 朝 刘凤云 程度胜*

（军事医学科学院生物工程研究所，北京 100071）

摘 要 构建 TPO 模拟肽与人 IgG1Fc 融合蛋白的酵母表达体系。利用 PCR 技术，从重组质粒 pET28a-TMPFc 中，扩增 TPO 模拟肽与人 IgG1Fc 的 DNA 片段，连入 pPICZαA 酵母表达载体，电激法转化毕赤酵母。用 MDH 和 MMH 筛选具有正确表型的重组转化子，PCR、蛋白质印迹鉴定融合基因。MTT 法鉴定 TMPFc 对 Ba/F3-mpl 细胞生长的促进作用。构建的重组毕赤酵母实现了 TMPFc 的分泌表达，表达量占外分泌蛋白质的 65%。表达蛋白质的相对分子量约 64kD，对 Ba/F3-mpl 生长具有促进作用。TMPFc 酵母表达体系表达出可观的二价模拟肽，为二价 TMP 活性的定量研究奠定基础。

关键词 TPO 模拟肽，毕赤酵母，融合蛋白

中图分类号 Q786 **文献标识码** A **文章编号** 1000-3061(2004)01-0025-05

许多用于肿瘤化疗的药物，皆可引起中性粒细胞和血小板数目急剧减少、并产生明显病症，包括自发性出血症状。中性粒细胞减少症可通过使用 rhG-CSF 而得以缓解。而重型血小板减少症临床治疗仍只能采用血小板输注疗法，但该疗法存在严重副作用，包括输血反应、免疫反应和二次感染等，而且血源有限，也增加患者治疗费用。rIL-11 是唯一被批准为化疗引发血小板减少症治疗的辅助药物，对恢复血小板数目具有一定作用，但 rIL-11 是非特异的，同时存在诸多副作用[1,2]。血小板生成素是促血小板生成的特异性调节因子，克隆表达的两种重组血小板生成素（rhTPO 和 PEG-rHuMGDF），体内外都具有促进巨核细胞增殖、分化和成熟及介导血小板生成的功效[3~5]。但 PEG-rHuMGDF 反复施用后，其药效降低至消失，而且产生与内源 TPO 具有交叉反应的中和抗体，中和了内源 TPO 作用，加剧或引发血小板减少症发生[6]，其临床试验被迫终止[7]。这可能影响到 rhTPO 的未来临床应用。从肽库中筛选取代细胞因子用于治疗的模拟肽，已成为细胞因子药物开发的一条有效途径。肽库中筛选到 TPO 模拟肽（序列为：IEGTLRQWLAARAC）的二聚体体外活性与 TPO 相当，为取代 TPO 用于血小板减少症治疗带来希望。我们在细菌表达的 TPO 模拟肽与人 IgG1Fc 融合蛋白（TMPFc）活性研究基础上[8]，进行 TPO 模拟肽与人 IgG1Fc 融合蛋白（TMP）在毕赤酵母中的分泌表达及活性鉴定。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株和质粒 大肠杆菌菌株 TOP10F′、*Pichia pastoris* 菌株 GS115 和 pPICZαA 质粒（Zeocin™ 抗性）由王健博士惠赠。含 TPO 模拟肽与人 IgG1Fc（定名为 TMPFc）融合基因的重组质粒 pET28a-TMPFc 由本室构建保存。

1.1.2 主要试剂及培养基 限制性内切酶、Taq DNA 聚合酶、T4 连接酶为 TaKaRa 公司产品，蜗牛酶为北京百泰生化产品。Zeocin™ 为 Invitrogen 公司的产品，第一抗体羊抗人 IgGFc 和第二抗体 HRP 标兔抗羊抗体购自欣经科生物有限公司。培养基：低盐 LB、YPD、MDH、MMH、BMGY 和 BMMY 均按“Invitrogen 公司操作手册”推荐的方法配制。

1.1.3 主要仪器 CERTOMATB53 恒温振荡培养箱为德国 B. Braun 公司产品、PCR 仪为 PE 公司产品，电泳仪、电转仪为 Bio-Rad 公司产品，SDT-1 型半干转移仪为北京菲姆斯科技开发公司产品，MICON8200 浓缩器为 GRACE 公司产品。

1.2 方法

1.2.1 引物设计 从构建的细菌表达质粒 pET28a-

收稿日期：2003-07-03，修回日期：2003-10-20。

* 通讯作者。 Tel：86-10-66948845；E-mail：chengds974@sohu.com

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

TMPFc 上,针对 TMPFc 融合基因 5′端和 3′端设计引物 P1 和 P2。为了确保分泌的外源蛋白质 N-端不含有多余的氨基酸残基,在克隆融合基因时,正向引物 P1 上添加位于信号肽中的 *Xho* Ⅰ 酶切位点和 *Kex*2 信号肽切点前的核苷酸残基,反向引物 P2 上添加 *Xba* Ⅰ 酶切位点,其序列如下:P1:5′-gtcactc gag aaa aga gag gct gaa gct atc caa ggt ccg act ctg-3′;P2:5′-gt-catct aga taa ttt acc cgg aga cag-3′,引物由本所合成。

1.2.2 重组质粒构建:用引物 P1 和 P2 组合,以含有 TMPFc 融合基因的重组质粒 pET28a-TMPFc 为模板,PCR 扩增 TMPFc 融合基因,琼脂糖凝胶电泳分析 PCR 扩增产物,PCR 产物以 *Xho* Ⅰ 和 *Xba* Ⅰ 双酶切后,与同样酶切处理的载体 pPICZαA 连接,重组质粒以氯化钙方法转化大肠杆菌菌株 TOP10F′,经扩增、限制性酶切鉴定和 DNA 序列分析,筛选重组克隆。

1.2.3 转化酵母细胞及抗性转化子筛选:将测序正确的重组质粒 pPICZαA-TMPFc 用 *Sac* Ⅰ 进行酶切线性化,与新制备的毕赤酵母 GS115 感受态混合后,用 BioRad Gene PuLser 电击仪电击,参数为:1.5kV,25μF,200Ω。电击后立即向电击杯中加 1mL 冰冷的山梨醇,经温育,各取 50、100、200μL 菌液涂布于含抗生素 Zeocin™ 100μg/mL 的固体 YPDS 上,30℃培养 2~4d,筛选生长速度快的转化子。

1.2.4 毕赤酵母重组子甲醇利用表型鉴定:将 YPDS 固体培养基的抗性克隆复制到 MDH 和 MMH (Zeocin™终浓度为 100μg/mL)平板上,确保每个菌落先接种 MMH 平板,30℃培养 3d 后,观察菌落大小,在 MDH 和 MMH 上生长皆快,且大小相当的菌落为甲醇利用快型 Mut^+,而在 MDH 上生长正常,在 MMH 生长缓慢或几乎没有生长的菌落为甲醇利用慢性 Mut^s。

1.2.5 重组毕赤酵母基因组的 PCR 分析:将甲醇利用快型的转化子接种到 5mL 含 Zeocin™ 100μg/mL 的液体 YPD 培养基中,30℃培养 2d,离心收集酵母细胞,用缓冲液悬浮沉淀,悬浮液转到 1.5mL 离心管中。加入 200μL 蜗牛酶溶液(10mg/mL),37℃培养 1h 后,离心弃上清,沉淀按"酵母 DNA 微量制备"[9]操作方案分离酵母基因组并溶于 0.3mL TE。取 5μL 溶液以 P5′-AOX1:5′-gactggttccaattgacaagc-3′和 P3′-AOX1:5′-gcaaatggcattctgacatcg-3′为引物进行 PCR 扩增。PCR 反应参数:先 94℃变性 4min,然后 94℃ 变性 1min、55℃退火 1 min、72℃ 延伸 2min,重复 30 个循环,最后 72℃延伸 10min。反应结束取 20μL 上样电泳检测。

1.2.6 重组毕赤酵母的诱导培养:挑取甲醇利用快型的单菌落接种 5mL BMGY(Zeocin™终浓度为 100μg/mL),30℃培养至对数期 $OD_{600}=2\sim6$(16~18h),室温下离心收集菌体,无菌水漂洗,离心弃上清,菌体转至 30mL BMMY(Zeocin™终浓度为 100 μg/mL)中,28℃ 240 r/min 甲醇诱导培养 4d,离心收集上清,进行 SDS-PAGE 电泳分析。

1.2.7 表达上清免疫学分析:取甲醇诱导表达上清液进行 12%浓度胶的 SDS-PAGE,电泳后将分离的条带转至硝酸纤维素膜上进行 Western-blot 鉴定。测定融合蛋白的免疫反应性和相对分子量。

1.2.8 生物活性的鉴定:取甲醇诱导培养上清液,用超滤法进行浓缩和初步纯化,用 MTT 法检测 TMPFc 对 TPO 依赖性细胞株生长的促进作用。Ba/F3-mpL 细胞用含 TPO 模拟肽的 RPMI1640 培养基进行传代培养至对数期,取对数期细胞用 MTT 法检测融合蛋白中 TPO 模拟肽的生物活性。

2 结 果

2.1 重组质粒构建

载体 pPICZαA 和 P1、P2 组合扩增的目的基因 TMPFc 皆用 *Xho*Ⅰ和 *Xba*Ⅰ双酶切,产物分别用 0.9%琼脂糖胶电泳和乙醇沉淀回收线性化的 pPICZα A 和目标片段,用 T4 连接酶连接,构建重组质粒(图 1)。产物转化 TOP10F′,提取质粒,*Bam*H Ⅰ酶切鉴定。融合基因 TMPFc 和载体 pPICZα A 上各有一个 *Bam*H Ⅰ 酶切位点,各位于 TMPFc 的 61bp 和 pPICZαA 的 1678bp 位置上。重组质粒用 *Bam*H Ⅰ 酶切产生两片段的大小应分别为 1083bp 和 2182bp。酶切产物的电泳结果符合预算值(图 2)。

2.2 重组毕赤酵母基因组 PCR 分析

以 $P_{5'\text{-AOX}}$和 $P_{3'\text{-AOX1}}$为引物对酵母基因组 DNA 进行 PCR 扩增,产物用 0.9%的琼脂糖凝胶电泳检测。除 5 号克隆的基因组外,重组克隆皆检出阳性结果,鉴定结果如图 3。

2.3 甲醇诱导重组毕赤酵母的表达

取甲醇诱导 4 天的表达上清,做还原和非还原 SDS-PAGE 电泳分析,电泳结果显示不加 DTT 和加 DTT 的目的条带位置不一样,非还原的目的条带位置落后于还原的目的条带位置,而且前者的分子量是后者的二倍,PICZα A 转化菌株的分泌上清电泳在相应位置上没有条带,即目标蛋白获得了分泌表达,且以二聚体形式存在于表达上清中(图 4)。

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

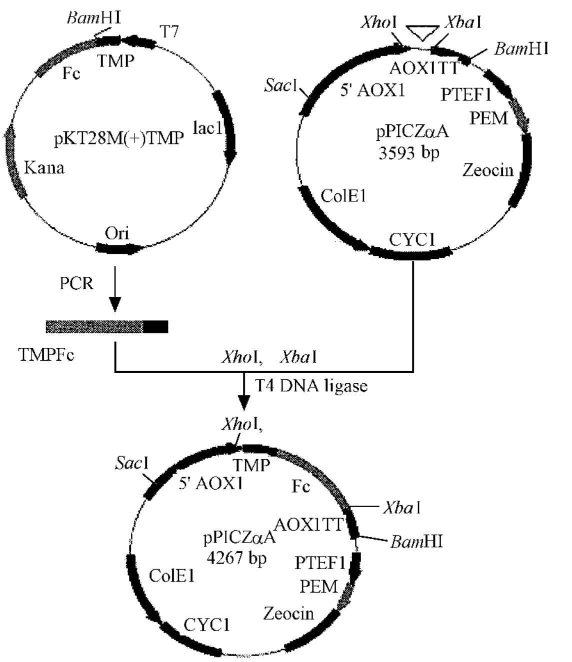

图 1　重组质粒 pPICZαA-TMPFc 的构建

Fig.1　Construction of recombination plasmid pPICZαA-TMPFc

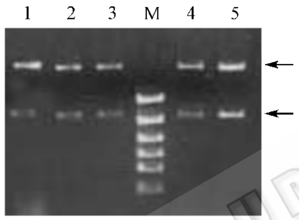

图 2　重组质粒 pPICZαA- TMPFc 限制性酶切图谱

Fig.2　Restriction map of recombination plasmid pPICZα A-TMPFc

M：PCR marker（1543，994，697，515，377，237bp）；

1～5：pPICZαA-TMPFc/*Bam*HⅠ

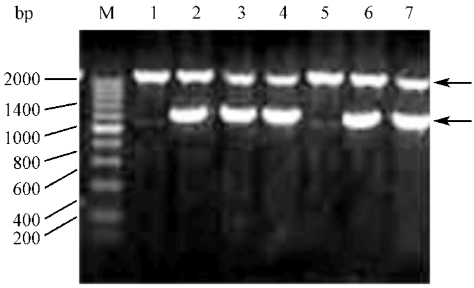

图 3　PCR 扩增整合在 GS115 染色体中的目的基因

Fig.3　PCR analysis of the interested gene integrated in GS115 genome

M：DNA marker（200，400，…2000bp）；

1：PCR result of GS115/pPICZα A；

2～7：PCR result of GS115/pPICZα A-TMPFc

2.4　融合蛋白的 Western-blot 检测

相关实验证实，TPO 模拟肽不具有免疫原性，因而不能获得抗 TPO 模拟肽的抗体，故通过鉴定 IgG1Fc 间接检测 TPO 模拟肽的存在。一抗为羊抗人 IgG1Fc 的血清，二抗为辣根过氧化物酶标的兔抗羊抗体，以底物 DAB 显色，进行 Western-blot 试验，结果产生两条带，前带位置与重组 BL21 表达的 TMPFc 带位一致，占分泌上清总蛋白的 9%，后带比前带的分子量大约 2.5kD，占上清总蛋白的 56%（图 5）。

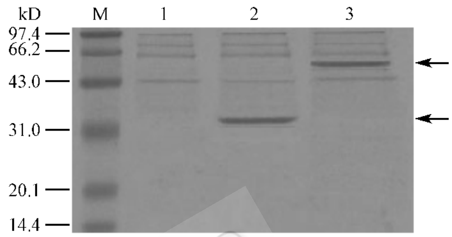

图 4　表达产物的 12%SDS-PAGE 分析

Fig.4　12% SDS-PAGE analysis of the expression products

M：Molecular weight standard

1：medium supernatant of GS115/pPICZαA；

2：medium supernatant of GS115/pPICZαA-TMPFc（DTT）；

3：medium supernatant of GS115/pPICZαA-TMPFc（no DTT）

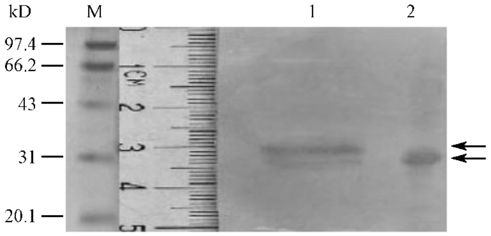

图 5　融合蛋白的 Western blot 分析

Fig.5　Western blot of the fusion proteins

M：molecular weight standard；

1：the medium supernatant of GS115/pPICZαA-TMPFc；

2：the inclusion body of BL21/pET28a-TMPFc

2.5　毕赤酵母表达的融合蛋白活性

取冻存的经过过滤除菌的重组毕赤酵母分泌表达上清于常温下融化，以 GS115/pPICZαA 的表达上清作阴性对照，以 TPO 模拟肽做阳性对照，各做 3 个平行，测定结果经 T 检验，重组表达上清与阴性表达上清 $P < 0.05$，与 TPO 模拟肽（60nmol/L）或 TPO（0.15nmol/L）$P > 0.05$，即表达上清具有活性，但活性不高，只与 TPO 模拟肽（60nmol/L）或 TPO（0.15nmol/L）的活性相当，测定结果见表 1。

journals.im.ac.cn

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部　http://journals.im.ac.cn

表1 TMPFc体外活性鉴定

Table 1 The *in vitro* activity of TMPFc

	The supernatant of GS115/pPICZαA	The supernatant of GS115/pPICZαA- TMPFc	TPO mimetic peptide(60nmol/L)	rhTPO(0.15nmo/L)
$OD_{492\text{-}630}$	0.093	0.532	0.456	0.512
	0.081	0.458	0.475	0.523
	0.126	0.468	0.372	0.498a
Verage	0.100 ± 0.023	0.486 ± 0.040	0.434 ± 0.055	0.511 ± 0.019

3 讨 论

甲醇毕赤酵母(*Pichia pastoris*)是一种甲基营养型酵母,在缺乏抑制性碳源如葡萄糖、甘油时,能利用甲醇作为唯一碳源生长。它含有乙醇氧化酶基因(*AOX*1),其强启动子受到甲醇的严格调控,可以用来驱动外源蛋白质的高效表达。甲醇酵母对表达蛋白质具有翻译后的加工、修饰,糖基化修饰程度与哺乳动物的相似;表达产量高;简单含盐培养基即可培养,成本较昆虫和哺乳动物表达系统低的多,适合高密度培养;背景蛋白质少,表达产物较易纯化等[10]。这些优势使得甲醇酵母在表达外源蛋白质中倍受亲睐。

用酵母菌落PCR筛选重组克隆,可减小工作量,提高工作效率,但酵母细胞壁厚、结构坚韧,难以裂解,再加其他未知因素,菌落PCR筛选阳性克隆的可靠性受到质疑。我们采用蜗牛酶解法、玻璃珠撞解法、冷冻煮沸等方法处理酵母细胞,然后取离心上清进行PCR,电泳结果显示假阴性率高。提取毕赤酵母基因组DNA进行PCR分析,虽较繁琐,但假阴性少,是检测外源基因整合的最可靠方法。其次表达质粒pPICZα A为3.6kb,较pPIC9K小,更易通过电穿孔转化毕赤酵母,提高转化效率。pPICZαA含Zeocin™抗性基因,产生抗Zeocin™的抗性蛋白质,用Zeocin™进行筛选比用营养缺陷性筛选极大降低了假阳性率,提高筛选效率。我们从6个抗Zeocin™、Mut^+表型的菌落中提取基因组进行PCR鉴定。GS115/pPICZαA-TMPFc理论上应产生两条带:其一为AOX1基因、长度约为2.2kb,其二为含融合基因的、长度为1320bp(pPICZα A载体),结果6个克隆中5个克隆的PCR产物电泳为2条带,完全满足实验需要。

从噬菌体展示肽库的初级和突变肽库中筛选获得的14氨基酸残基的TPO模拟肽。该肽二聚体28肽的体外活性与TPO活性相当,但该肽分子小、体内易被肾脏滤过,半衰期缩短。化学合成、PEG修饰的TMP二聚体,体外活性与TPO的活性相当、半衰期延长[11,12],但化学修饰的均一性差,且成本较高。基因工程修饰制备的TMP二聚体,不仅均一性好,而且代价低,操作简便。细菌表达的TMPFc以包涵体形式存在,溶解、复性为二聚体难度极大,单体虽然有相当的活性,但较TPO或二聚化TPO模拟肽的活性低。我们将TPO模拟肽与人IgG1Fc在毕赤酵母中融合表达,欲借Fc的链间二硫键产生二价的模拟肽,以提高其活性和延长体内半衰期。TMPFc在重组GS115/pPICZα A-TMPFc表达系统中实现了分泌表达,且以二聚体形式存在,表达产物的分子量比理论计算值稍大,可能是糖基化所致。人IgG1Fc具有一个N糖基化位点,携糖量为8~14个糖残基,增加的分子量约为1.3~2.5kD。Western-blot检测发现TMPFc融合蛋白具有两条带,分子量较小的前带与细菌表达的带位置一致,分子量较大的后带比前带大2.5kD左右,即一个糖基化的数值,推测可能为糖基化修饰所致。

相关研究证实,TPO模拟肽不具有免疫原性[8,11,12],不会刺激机体产生相应抗体,这为其取代TPO应用于血小板减少症治疗提供了可能。重组毕赤酵母表达的TMPFc以二聚体存在,且TMPFc体外具有刺激TPO依赖性细胞株Ba/F3-mpl增殖的活性。

REFERENCES(参考文献)

[1] Isaacs C, Robert NJ, Bailey FA *et al*. Randomized placebo-controlled study of recombinant human interleukin-11 to prevent chemotherapy-induced thrombocytopenia in patients with breast cancer receiving dose-intensive cyclophosphamide and doxorubicin. *J Clin Oncol*, 1997, **15**:3368-3377

[2] Tepler I, Elias L, Smith JW 2nd *et al*. Randomized placebo-controlled trial of recombinant human interleukin-11 in cancer patients with severe thrombocytopenia due to chemotherapy. *Blood*, 1996, **87**:3607-3614

[3] Alexander WS, Roberts AW, Nicola NA *et al*. Deficiencies in progenitor cells of multiple hematopoietic lineages and defective megakaryocytopoiesis in mice lacking the thrombopoietin receptor c-mpl. *Blood*, 1996, **87**:2162-2170

[4] Shibuya K, Akahoir H, Takahashi K *et al*. Multilineage hematopoietic recovery by a single injection of pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor in myelosuppressed mice. *Blood*, 1998, **91**:37-45

[5] Andrews RG, Winkler A, Myerson D *et al*. Recombinant human ligand for MPL, megakaryocyte growth and development factor (MGDF), stimulates thrombopoisis *in vivo* in normal and myelosuppressed

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

boboons. *Stem Cells*, 1996, **14**:661－677

[6] Yang C, Xia Y, Li J *et al*. The appearance of anti-thrombopoietin antibody and circulating thrombopoietin-IgG complexes in a patient developing thrombocytopenia after the injection of PEG-rHuMGDF. *Blood*, 1999, **94**:681－685 (suppl 1)

[7] PJB publication Ltd. Amgen halts growth factor trial scrip. 1998, **2370**:20

[8] Li YX(李越希), Li C(李朝), Tao KH(陶开华) *et al*. Expression of TPO mimetic peptide chimeric proteins with human IgG1Fc fragments and their biological characters. *Chinese Journal of Biotechnology*(生物工程学报), 2002, **18**:424－430

[9] Alison A, Daniel EG, Chris AK *et al*. *Method in yeast genetics*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1998, pp.85－86

[10] Brierley RA, Bussineau C, Siegel RS *et al*. Fermentation development of recombinant Pichia pastoris expressing the heterologous gene: bovine lysozyme. *Ann N Y Acad Sci*. 1990, **589**:350－362

[11] Cwirla SE, Balasubramanian P, Duffin DJ *et al*. Peptide agonist of the thrombopoietin receptor as potient as the nature cytokine. *Science*, 1997, **276**:1696－1699

[12] de Serres M, Ellis B, Dillberger JE *et al*. Immunogenicity of thrombopoietin mimetic peptide GW395058 in BALB/c mice and new zealand white abbits: evalution of the potential for thrombopoietin neutralizing antibody production in man. *Stem Cells*, 1999, **17**:203－209

Expression of TMP Fc in *Pichia pastoris* and Identification of Its Biological Activity

YE Xiang-Zhong　GUO Qiang　LI Chao　LIU Feng-Yun　CHENG Du-Sheng*

(*Institute of Biotechnology*, *Academy of Military Medical Science*, *Beijing* 100071, *China*)

Abstract　The DNA coding for the fusion protein of thromobopoietin mimetic peptide (TMP) and human IgG1 Fc fragment was amplified from recombinant plasmid pET28a/TMPFc, inserted into pPICZαA and transformed into *Pichia pastoris* using electroporation. The recombinants of correct phenotype were identified after screening on MDH and MMH culture medium. The fusion gene was verified with PCR and western blot. MTT method was used to test the activity of TMPFc in promoting the growth of Ba/F3-mpl cell. The TMPFc with a 64 000 molecular weight was a secretary protein in the system and its expression amounted to 65% of the total protein in the medium supernatant. The TMPFc showed a promotive effect on the growth of Ba/F3-mpl *in vitro*. A significant portion of the secretary protein existed as dimer, which provided material for studying the dimer in future.

Key words　TPO mimetic peptide, *Pichia pastoris*, fusion protein

Received: 07-03-2003

* Corresponding author. Tel: 86-1066948845; E-mail: Chengds974@sohu.com

干细胞的应用研究

干细胞(Stem cells)的研究在国内外十分活跃，并取得一系列成果。摘取如下三方面：1. 源于脂肪的干细胞用于培育骨骼。美国杜克大学研究人员从成年人脂肪干细胞中培育出骨骼(如软骨细胞)取得成功，这项成果表明成年人体内组织(非胚胎组织)存在的干细胞有其多样性和多能性，脂肪干细胞具有转化成骨骼细胞及其他类型细胞的潜能。利用此项技术可培育骨骼组织在临床上治疗疾病，如在修复骨骼损伤或用于患者外科整形及治疗骨组织疾病等方面均有重要价值。另外，将取自患者自身的脂肪干细胞培育成骨骼细胞组织，用于临床组织移植时可显示其优越性：(1)不会造成排异反应；(2)不存在传播疾病的风险。这显示了成年人自身脂肪干细胞研究及其应用的前景。此外，日本的研究人员用骨髓细胞(指干细胞，即间叶干细胞)于体外培育成骨骼，并第一次实际应用于移植手术实验。2. 骨髓干细胞用于治疗心脏病。德国和中国香港两个研究小组曾利用心肌梗塞患者自身骨髓干细胞修复其受损伤的心脏取得成功。另据报道，美国、德国、中国(第四军医大学、复旦大学中山医院以及河南人民医院等)研究人员利用骨髓干细胞、或自体骨髓干细胞、或自体骨髓间质干细胞治疗心脏病或心肌梗塞患者均取得重要进展(参考本刊 2003, 19(6): 714)。与此同时，在巴西有利用心脏病患者自体骨髓干细胞或血液干细胞注射到患者右心室，能促使新心肌和血管的形成，使患者得到治愈。3. 干细胞有望用于治疗耳聋病。后天耳聋是由于内耳听觉感受细胞之毛细胞受到不可逆转的损伤所致。早在上世纪80年代后期曾发现非哺乳动物内耳毛细胞有可能通过耳朵干细胞增殖而获得再生能力，以重建耳朵的听觉和平衡功能。因此，这有可能使耳聋者得以医治。在这种思路指导下，我国有关专家(王政敏，李仕华)在美国哈佛大学作主题研究，首先成功地在成年老鼠内耳前庭平衡器中分离到干细胞(内耳干细胞)，它系一种多能干细胞，通过体内培养后转移到鸡胚胎中发育成内耳胚囊，再进一步分化成多种类型的细胞，毛细胞是其中之一。这项研究结果可揭示内耳毛细胞再生之根源，其内耳干细胞功能的利用将为人类耳聋者的治疗带来新希望。

总之，干细胞的全能性、多能性和专能性各取己需，为研发某种特定生物细胞材料用于临床组织细胞移植，治疗人类包括耳聋在内的各种疾病，或用于修复某些组织或细胞的损伤或者替换它们，以及研制‘干细胞再生剂’使机体组织‘返老还童’的设想等诸多领域，将发挥特定的功能作用，为人类创造奇迹。　(柯　为　供稿)

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn