

## 技术与方法

# 小鼠脑组织腺苷 A2A 受体缺失模型的建立与评价

戴双双, 王昊, 安建宏, 杨楠, 周元国

第三军医大学大坪医院野战外科研究所分子生物学中心, 国家创伤、烧伤与复合伤重点实验室, 重庆 400042

**摘要:** 制备了脑组织腺苷 A2A 受体基因缺失的小鼠模型并对该模型进行评价。在采用 2 次 6.2 Gy X 线间隔照射对敲除 A2A 受体基因的雌性 C57BL/6 小鼠进行骨髓处理后, 将野生型雄性 C57BL/6 小鼠骨髓细胞移植到其体内, 使其脑组织的 A2A 受体仍保持缺失型。然后对移植效果进行鉴定, 并对模型的生理指标进行观察和评价。结果发现: 骨髓移植 6 周后, 受体小鼠的白细胞性染色体基因由雌性变为雄性; 骨髓中 A2A 受体阳性细胞率为 94.85%, 而脑内 A2A 受体 mRNA 与 A2A 受体基因敲除小鼠比较, 无显著差异。模型小鼠除心率略低于野生型小鼠外, 在呼吸频率、脑含水量以及脑内谷氨酸含量等生理指标上均与野生型小鼠和 A2A 基因敲除小鼠无显著差异。

**关键词:** 外周血白细胞, 脑组织, A2A 受体, 骨髓移植

## Establishment and Evaluation of Brain Adenosine A2A Receptors Inactivation Model of Mice

Shuangshuang Dai, Hao Wang, Jianhong An, Nan Yang, and Yuanguo Zhou

State Key Laboratory of Trauma, Burn and Combined Injury, Research Institute of Surgery and Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China

**Abstract:** To establish a model of inactivation adenosine A2A receptors in brain tissues of mice, we transplanted bone marrow cells (BMCs) from wild type (WT) C57BL/6 mice into A2A receptor knockout (A2A KO) C57BL/6 mice which were previously fractionated total body irradiation of 6.2 Gy $\times$ 2. Six weeks later, we identified and evaluated the model. The results showed that the sexual chromogene pattern on white blood cells of recipient mice changed from female pattern to male pattern and there were 95.9% of A2AR<sup>+</sup> cells in peripheral white blood cells of recipient mice, whereas there was no significant difference of A2AR mRNA level in brains between these recipient mice and A2AR KO mice. Furthermore, there was no significant difference of breathing frequency, brain water content and level of glutamate between the model mice and WT mice. These results indicated that we established successfully a mouse model of inactivation adenosine A2A receptors in brain tissues. This may provide a new and efficient strategy to study the effect of adenosine A2A receptors in disease and injuries of central nervous system.

**Keywords:** peripheral white blood cells, brain tissue, A2A receptors, bone marrow transplantation

腺苷 A2A 受体最早由 Libert 等人于 1989 年从狗甲状腺的 G 蛋白偶联受体中克隆得到, 与其它已知的 3 种腺苷受体(A1、A2B 和 A3)一样, 通过与腺

苷作用发挥生物学效应<sup>[1]</sup>。其在体内分布较为广泛: 在外周主要表达于外周血中性粒细胞、巨噬细胞、血管内皮细胞及呼吸道粘膜等, 在中枢神经系统主

**Received:** August 23, 2007; **Accepted:** November 15, 2007

**Supported by:** the National Natural Science Foundation of China (Nos. 30328015 and 30671918).

**Corresponding author:** Yuanguo Zhou. Tel: +86-23-68757471; E-mail: ygzhou@cta.cq.cn

国家自然科学基金 (Nos. 30328015 和 30671918) 资助。

要表达于纹状体、听神经核和嗅结节、GABA 能神经元及小胶质细胞<sup>[2]</sup>。近年来,诸多研究发现,在外周组织损伤时,外周血白细胞上 A2A 受体激活具有显著保护作用;但在中枢疾病或损伤时,A2A 受体激活则表现为保护和加重损伤的矛盾效应<sup>[3-5]</sup>。在脑内的 A2A 受体主要有两个来源:一是来自于脑组织内的 A2A 受体;二是外周血入侵白细胞上 A2A 受体;二者的作用不同可能是发生这种矛盾现象的原因。因此,对于这两种来源的 A2A 受体在中枢不同损伤模型中的作用及机制探讨已成为目前该领域研究的焦点。

外周血白细胞上的 A2A 受体激活在颅脑疾病或损伤时是否发挥与外周类似的保护作用?颅脑疾病或损伤时是脑组织还是外周血白细胞上来源的 A2A 受体激活后起主导作用?回答以上问题无疑是解释 A2A 受体在中枢矛盾现象的关键。因此,本研究在前期建立选择性缺失外周血白细胞上 A2A 受体的小鼠模型的基础上<sup>[6]</sup>,复制脑组织内 A2A 受体缺失的小鼠模型,为探索中枢 A2A 受体的功能、更深入揭示 A2A 受体对疾病和损伤的调控机制提供科学有效的手段,进而为选择 A2A 受体的调节药物治疗疾病、减轻损伤奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 仪器

直线加速器(Elekta, 瑞典),梯度 PCR 仪(Eppendorf, 德国),定量 PCR 仪(Stratagene Mx3000P, 美国),低温台式高速离心机(Heraeus, 德国),可见光/紫外凝胶扫描分析系统(UVP, 美国),扫描分析软件系统(Labworks™ Analysis Software, 美国),荧光显微镜(Leica, 德国),SPOT 成像系统(DIAGNOSTIC instrument. inc, 美国),图像分析系统(Image pro 4.5, 美国)。

#### 1.1.2 试剂

RPMI1640(Gibco BRL, 美国),台盼蓝(Amresco, 美国),山羊抗小鼠腺苷 A2A 抗体(santa cruz, 美国),TRITC 标记的兔抗山羊 IgG(santa cruz, 美国)。

#### 1.1.3 动物

供体小鼠:雄性野生型 C57BL/6 小鼠,及同胞 A2A 受体基因敲除 C57BL/6 小鼠(对照组)(12 周,

25~28 g);受体小鼠:雌性 A2A 受体基因敲除 C57BL/6 小鼠(8~10 周,22~25 g)。A2A 受体基因敲除小鼠模型由美国波士顿大学陈江帆教授建立并赠送,并于第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所实验动物中心 SPF 条件下繁殖。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 实验分组

实验分为如下 4 个组:(1)WT 组:野生型小鼠,作为阳性对照组;(2)KO 组:A2A 受体基因敲除小鼠,作为阴性对照组;(3)KO KO 组:将 A2A 受体基因敲除小鼠的骨髓移植到 A2A 受体基因敲除小鼠体内,作为移植的平行对照组;(4)WT KO 组:将野生型小鼠的骨髓移植到 A2A 受体基因敲除小鼠体内,形成脑组织内 A2A 受体缺失模型。

#### 1.2.2 放射法清除受体骨髓<sup>[6]</sup>

使用直线加速器对受体小鼠(雌性)进行全身 X 线照射,分两次照射,每次 6.2 Gy,间隔 4 h,剂量率均为 1.0 Gy/min。

#### 1.2.3 供体骨髓细胞提取

脱臼处死供体小鼠(雄性),75%酒精浸泡 3 min;在超净台内分离股骨及胫骨,剪开骨两端,用含 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养基冲出骨髓细胞,过 150 目筛网,4℃,200 g 离心 5 min,沉淀的细胞用 RPMI1640 培养基再洗 2 次;调整细胞浓度为  $2 \times 10^8$  个/mL 备用,用 0.2%台盼蓝检查细胞活性,活细胞数大于 95%即可用做骨髓移植。

#### 1.2.4 骨髓细胞移植

经 X 线全身照射后 24 h,受体小鼠接受骨髓移植,每只小鼠经尾静脉注入 0.3 mL 供体小鼠骨髓细胞悬液。受体小鼠接受骨髓移植后,在无菌条件下饲养 6~8 周,食物高压灭菌,饮水中加入 5 mmol/L 磺胺异恶唑和 0.86 mmol/L 甲氧苄啶。移植骨髓细胞数量分为 3 个组:(1)对照组:只注入含血清的 RPMI1640;(2) $6 \times 10^6$  个细胞组;(3) $2 \times 10^7$  个细胞组。各剂量均包括野生型骨髓细胞组和 A2A 受体敲除鼠骨髓细胞组两组。

#### 1.2.5 移植效果评定

(1) PCR 法检测受体小鼠骨髓细胞是否来自供体小鼠:利用不同性别小鼠的骨髓细胞的性染色体基因(*Smcy/Smcx*)不同的特性,将雄性小鼠的骨髓细胞移植到雌性小鼠体内,以此判断受体小鼠(雌性,

性染色体基因 PCR 条带为 330 bp)骨髓分化的细胞是否来自供体小鼠(雄性, 性染色体基因 PCR 条带为 300 bp 和 330 bp)的骨髓细胞。具体方法参见前期报道<sup>[7]</sup>。

(2) 定量 PCR 法检测脑组织 A2A 受体 mRNA 水平: 分别将 4 个实验组小鼠脑组织进行冲洗以排除血管中残留白细胞上 A2A 受体的影响, 然后按常规方法提取 4 个实验组小鼠脑组织的总 RNA, 逆转录为 cDNA 后利用定量 PCR 方法检测小鼠接受骨髓移植前后脑组织内 A2A 受体 mRNA 表达水平变化。A2A 受体引物: P1: 5'-AGCCAGGGTTACATCTGTG-3', P2: 5'-TACAGACAGCCTCGACATGTG-3'定量 PCR 体系(25  $\mu$ L): 5 $\times$ PCR Buffer 5  $\mu$ L, dH<sub>2</sub>O 9.125  $\mu$ L, dNTP Mixture(各 2.5 mmol/L)1.2  $\mu$ L, MgCl<sub>2</sub>(25 mmol/L)0.8  $\mu$ L, 上游引物(10 pmol/ $\mu$ L) 0.25  $\mu$ L, 下游引物(10 pmol/ $\mu$ L)0.25  $\mu$ L, TaqHS 0.125  $\mu$ L, 1 $\times$ SYBR Green 6.25  $\mu$ L, 模板 cDNA 2  $\mu$ L。定量 PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 4 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 59 $^{\circ}$ C 15 s, 72 $^{\circ}$ C 20 s, 40 个循环。

(3) 免疫组化法检测白细胞 A2A 受体表达水平:

(i) 收集小鼠外周血 100  $\mu$ L, 红细胞裂解液裂解红细胞, 后用所得白细胞涂片, 4%多聚甲醛固定 15 min。

(ii) 常规方法分别加入 A2A 受体抗体(滴度 1:100)和 TRITC 标记的 IgG(滴度 1:100), 荧光显微镜下观察。

在显微镜下随机挑选 5 个视野中腺苷 A2A 受体阳性细胞计数(至少计数 200 个细胞), 计算阳性细胞百分比。

(4) 移植存活率观察: 观察移植的骨髓细胞数量对小鼠存活率的影响, 记录骨髓移植后每只小鼠的存活时间并计算存活率, 观察期为 6 周。

## 1.2.6 移植后生理指标观察

在骨髓移植 6 周后, 对受体小鼠呼吸频率、心率、脑脊液中谷氨酸水平以及脑含水量等生理指标进行检测。呼吸频率与心率通过观察获得; 脑脊液中谷氨酸水平利用高效液相色谱方法检测<sup>[8]</sup>; 脑含水量通过常规的干湿重法检测。

## 1.2.7 统计学处理

采用 SPSS10.0 统计软件处理, 结果采用均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ ),  $t$  检验进行显著性分析。

# 2 结果

## 2.1 移植效果鉴定

### 2.1.1 受体小鼠骨髓来源鉴定

PCR 结果显示: 移植前的受体小鼠白细胞性染色体基因扩增产物仅有 330 bp 一个条带(雌性), 而接受野生型雄性小鼠骨髓细胞移植在 6 周后, 其性染色体基因扩增产物则类似于雄性小鼠, 为 300 bp 和 330 bp 2 个扩增条带, 从而证实受体小鼠的骨髓细胞源于供体小鼠(图 1)。

### 2.1.2 受体小鼠脑内 A2A 受体 mRNA 表达量检测

模型中的受体小鼠为 A2A 受体基因敲除的雌性小鼠。为证实该受体小鼠在接受野生型雄性小鼠的骨髓移植后, 表达 A2A 受体的骨髓细胞不会进入脑组织, 确保脑组织仍为 A2A 受体基因缺失型, 我们对受体小鼠接受移植前后的脑内 A2A 受体 mRNA 表达进行了检测。结果显示, WT $\rightarrow$ KO 组与 KO 组及 KO $\rightarrow$ KO 组类似, 脑内几乎都不表达 A2A 受体。KO $\rightarrow$ KO 组与 KO 组之间无显著差异, 提示骨髓移植本身不会引起脑组织受体表达的变化(图 2)。

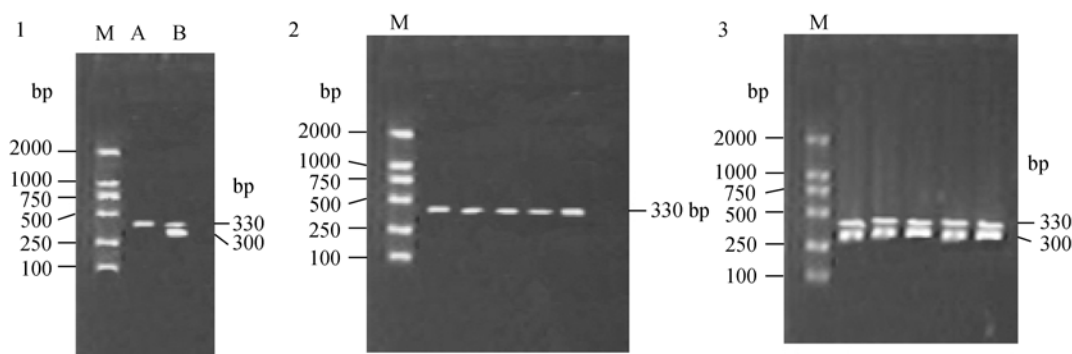


图 1 PCR 法检测受体小鼠外周血白细胞性染色体基因结果

Fig. 1 Identification of band pattern of sexual chromagene on white blood cells by PCR

1: band pattern of male (A) and female mouse(B); 2: band patterns of the mice before transplantation; 3: band patterns of the mice 6 weeks after transplantation; M: DNA marker

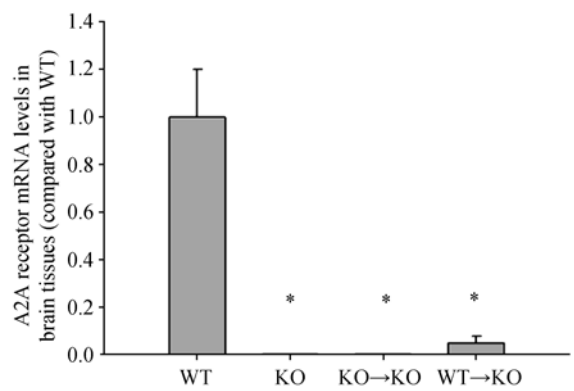


图 2 小鼠脑内 A2A 受体 mRNA 相对水平

Fig. 2 Relative mRNA levels of A2A receptors in the brain tissues of mice

\*  $P < 0.01$ , compared with WT group

2.1.3 受体小鼠外周血白细胞 A2A 受体表达检测

受体小鼠在接受移植后, 脑内不表达 A2A 受体, 但其骨髓来源于野生型小鼠, 其外周血白细胞上表达 A2A 受体。通过免疫荧光方法观察, 可见骨髓移

植前受体小鼠外周血白细胞不表达 A2A 受体, 而移植后, 其外周血白细胞上 A2A 受体阳性率达 94.85% ( $P < 0.01$ ), 与野生型小鼠(96.82%)比较, 无显著差异(图 3)。

2.1.4 移植的骨髓细胞数量对存活率的影响

清髓后, 接受 RPMI1640 培养基注射的小鼠 ( $n=6$ ) 在观察期限内全部死亡。接受  $6 \times 10^6$  个骨髓细胞移植的小鼠存活率仅为 50.3%; 而接受  $2 \times 10^7$  个骨髓细胞移植的小鼠存活率则可达 85.5% (重复实验 3 次, 每次  $n=10$ )(图 4)。

2.2 基本生理指标的检测

在接受移植 6 周后, 在呼吸频率、脑脊液中谷氨酸含量以及脑含水量上, 无论是接受 A2A 受体基体敲除组(KO), 都与野生型组(WT)无显著差异。仅在心率这一指标上, WT→KO 组、KO→KO 组及 KO 组均略低于 WT 组( $P < 0.05$ ), 但 3 组之间无显著差异(图 5)。

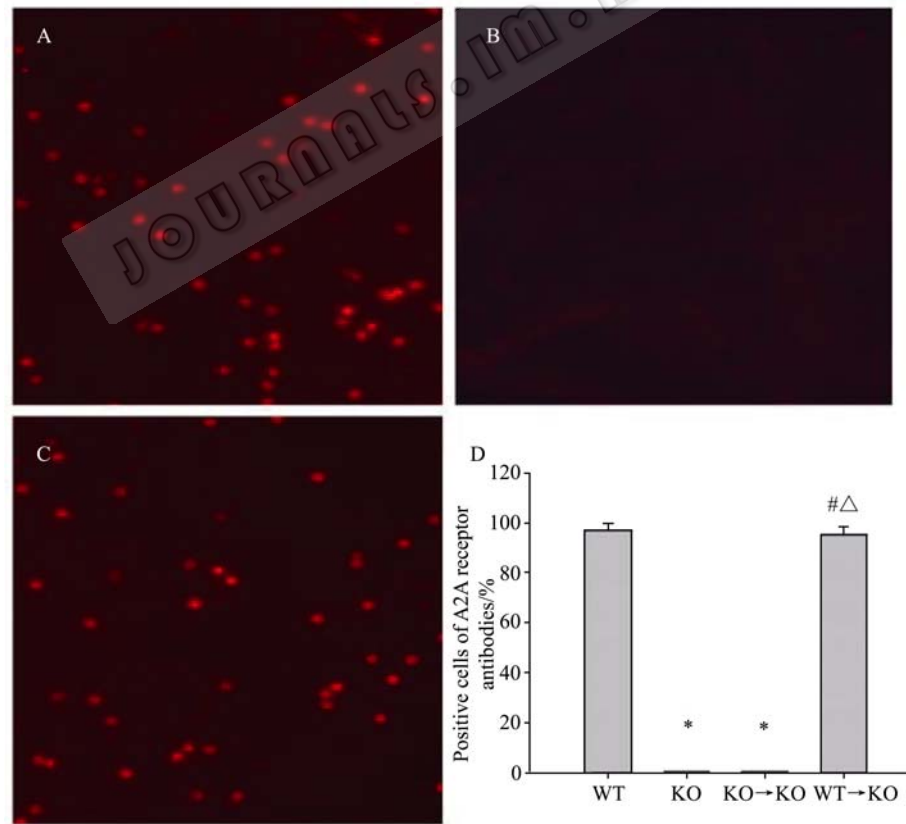


图 3 小鼠外周血白细胞 A2A 受体表达(TRITC, ×400)

Fig. 3 Identification of A2A receptors on peripheral white blood cells (TRITC, ×400)

A: WT group; B: KO group; C: WT KO group; D cell counting

\*  $P < 0.01$ , compared with WT group; #  $P < 0.01$ , compared with KO group;

$P < 0.01$ , compared with KO KO group

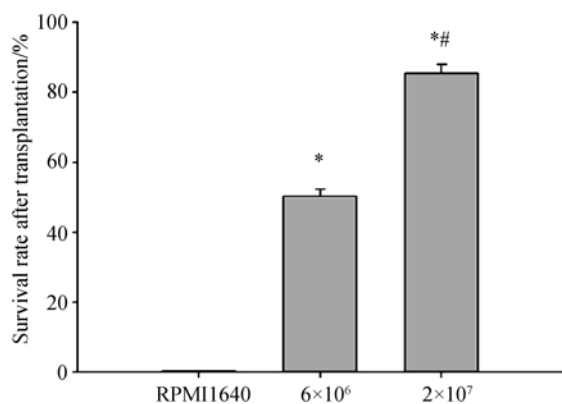


图4 移植细胞数量对移植存活率的影响

Fig. 4 Effect of the numbers of transplanting cells on survival rate

RPMI: mice transplanted with RPMI culture;  $6 \times 10^6$ : mice transplanted with  $6 \times 10^6$  bone marrow cells;  $2 \times 10^7$ : mice transplanted with  $2 \times 10^7$  bone marrow cells

\* $P < 0.01$  (compared with RPMI group); \*\* $P < 0.01$  (compared with  $6 \times 10^6$  group)

### 3 讨论

目前, 已有小鼠脑内 A2A 受体选择性缺失模型, 如 Bastia、Chen 等利用 Cre/loxP 的策略选择性敲除了动物脑内 A2A 受体, 而外周血白细胞及其他组织的 A2A 受体均存在<sup>[9,10]</sup>。这种模型特异性较好, 可用于外周及中枢对 A2A 受体的研究。但由于需要对转基因动物进行繁育, 故制备及鉴定较为繁琐, 操作要求较高。因此, 在以主要研究外周血白细胞及脑组织内两个组织来源的 A2A 受体功能的前提下, 本实验采用了较 Cre/loxP 法更为简单易行的骨髓移植方法构建了非选择性脑组织内 A2A 受体缺失的小鼠模型: 即脑组织及其它组织 A2A 受体均缺失, 但外周血白细胞上仍表达 A2A 受体。基于在中枢损伤或疾病模型中, 其他组织 A2A 受体的表达或活化对于损伤或疾病的影响相对较少, 而主要是高表达

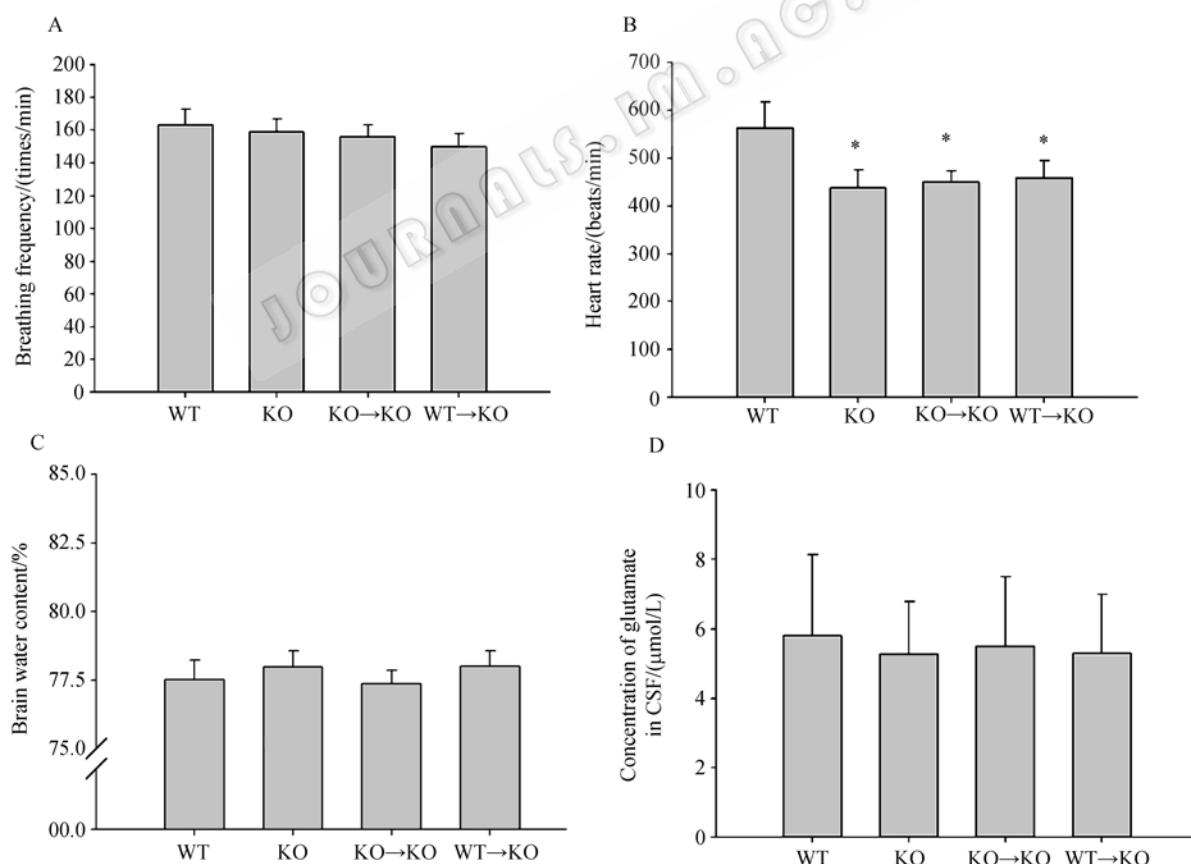


图5 小鼠基本生理指标检测

Fig. 5 Assay of physiological conditions of mice

A: breathing frequency (BR); B: heart rate (HR); C: level of glutamate in cerebrospinal fluid; D: brain water content

\* $P < 0.05$ , compared with WT group

A2A 受体的外周血白细胞和脑组织内神经元等是决定 A2A 受体在中枢生物学效应的关键,该模型中其他组织内 A2A 受体也为缺失型则基本不会影响模型在中枢疾病或损伤研究中的应用。

由于模型的建立采用骨髓移植的方法,在骨髓移植 6 周后,我们对移植效果进行了鉴定。首先,移植后的存活率是模型建立的首要问题。前期实验发现移植的骨髓细胞数量达到  $6 \times 10^6$  个就可明显增加小鼠存活率<sup>[6]</sup>。而本实验中,我们发现:当移植细胞数为  $6 \times 10^6$  个时,移植存活率仅为 50.3%;而当移植细胞数达到  $2 \times 10^7$  个时,则可使按此细胞数移植的存活率则可达 85.5%,即 WT→KO(缺失脑内 A2A 受体)移植时移植细胞数需要比 KO→WT(选择性缺失外周血 A2A 受体)移植时高。这提示野生型受体小鼠与 A2A KO 型受体小鼠在骨髓时对 X 线的耐受力、骨髓重建能力上有所不同,具体机制尚待进一步研究证实。

其次,明确受体小鼠的骨髓在接受移植后得以重建。本实验中的受体小鼠为雌性,而供体小鼠为雄性。利用不同性别小鼠的骨髓细胞的性染色体基因(*Smcy/Smcx*)不同的特性,通过 PCR 法对骨髓细胞分化的细胞基因型进行鉴定。结果显示:骨髓移植 6 周后的受体小鼠外周血 PCR 产物电泳条带从移植前的 330 bp 单带型(雌性)转变为 300 bp 和 330 bp 双带型(雄性),从而说明受体小鼠的外周血细胞来自供体小鼠骨髓细胞分化的细胞,骨髓重建成功。

再者,明确受体小鼠脑内 A2A 受体缺失。受体小鼠本为 A2A 受体基因敲除小鼠,即脑内与外周血均无 A2A 受体表达。而供体小鼠为野生型,当接受供体小鼠骨髓后,受体小鼠重建的外周血细胞上则应表达 A2A 受体,而脑内仍为 A2A 受体缺失型。免疫荧光及定量 PCR 检测结果显示,WT→KO 受体小鼠外周血细胞上 A2A 受体表达率与野生型小鼠无显著差异,而脑内 A2A 受体 mRNA 表达水平与移植前的 A2A 受体基因敲除小鼠无差异。由此模型选择性缺失脑内 A2A 受体的效果得以证实。

要使模型用于科学研究,必须保证模型的生理指标基础水平与野生型小鼠一致。为此,我们对移植后受体小鼠呼吸频率、心率、脑脊液中谷氨酸水平以及脑含水量等指标进行了观察,发现除心率略

低于野生型小鼠外(仍处于小鼠心率正常范围以内:310~840 beats/min<sup>[11]</sup>),其他指标均无显著差异,从而保证了该模型在以后实验中应用的可行性。此外,在模型的建立过程中,我们引入了 KO→KO 移植组进行质量控制,从而排除移植本身引起的受体、生理指标等的改变,结合以上结果证实了本模型的科学性和可靠性。我们已将该模型初步应用于小鼠颅脑创伤模型的研究中,实验结果显示该脑组织内 A2A 受体缺失的小鼠对颅脑创伤具有保护作用。颅脑创伤后 24 h 神经功能缺损评分( $x \pm \text{SEM}$ ):对照组:  $1.96 \pm 0.06$ ;该模型组:  $1.37 \pm 0.1$ ;两者相比较,  $P < 0.01$ ,进一步研究尚在进行中。

本模型制备过程简便,重复性强,稳定性好,为研究 A2A 受体在中枢神经系统损伤及疾病,如:颅脑创伤、缺血性脑损伤、帕金森氏病、亨廷顿病等中的作用提供了较理想可行的动物模型。而对于中枢及外周同时损伤或单纯外周疾病与损伤中 A2A 受体功能的研究,本模型则由于并非完全选择性缺失脑内 A2A 受体而受到局限。

结合选择性缺失外周血 A2A 受体模型的应用,本模型可为进一步阐释 A2A 受体双向作用的机理提供有效的研究手段,为更好界定 A2A 受体的生物学功能及病理学效应奠定基础。

## REFERENCES

- [1] Libert F, Parmentier M, Lefort A, *et al.* Selective amplification and cloning of four new members of the G protein-coupled receptor family. *Science*, 1989, **244** (4904): 569–572.
- [2] Dixon AK, Gubitz AK, Sirinathsinghji DS, *et al.* Tissue distribution of adenosine receptor mRNAs in the rat. *British Journal of Pharmacology*, 1996, **118** (6): 1461–1468.
- [3] Pinna A, Wardas J, Simola N, *et al.* New therapies for the treatment of Parkinson's disease: adenosine A2A receptor antagonists. *Life-Sci*, 2005, **77** (26): 3259–3267.
- [4] Wu R, Wang P. Adenosine A2A receptor activation: another potential therapy for trauma and hemorrhagic shock. *Crit-Care-Med*, 2006, **34** (4): 1273–1275.
- [5] Melani A, Gianfriddo M, Vannucchi MG, *et al.* The selective A2A receptor antagonist SCH 58261 protects from neurological deficit, brain damage and activation of p38 MAPK in rat focal cerebral ischemia. *Brain Res*, 2006, 1073–1074: 470–480.
- [6] An JH, Li W, Xie S, *et al.* Establish a Model of Selective Inactivation Adenosine A2A Receptors in PWBC of Mice. *Chinese Journal of Hematology*, 2007, **28** (3): 174–177.

安建宏, 李玮, 谢松, 等. 白细胞腺苷 A2A 受体基因缺失小鼠模型的建立. 中华血液学杂志, 2007, 28 (3): 174-177.

[7] Mroz K, Carrel L, Hunt PA, *et al.* Germ cell development in the XXY mouse: evidence that X chromosome reactivation is independent of sexual differentiation.*Dev Biol*, 1999, 207(1): 229-238.

[8] Li W, An JH, Zhu PF, *et al.* Determination of glutamate in microamount cerebrospinal fluid after acute brain injury in mice. *Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae*, 2006, 28 (12): 1290-1291.

李玮, 安建宏, 朱佩芳, 等. 急性脑损伤后微量脑脊液谷氨酸浓度的测定. 第三军医大学学报, 2006, 28 (12): 1290-1291.

[9] Bastia E, Xu YH, Scibelli AC, *et al.* A crucial role for forebrain adenosine A (2A) receptors in amphetamine sensitization. *Neuropsychopharmacology*, 2005, 30 (6): 891-900.

[10] Huang QY, Wei C, Yu LQ, *et al.* Adenosine A2A receptors in bone marrow-derived cells but not in forebrain neurons are important contributors to 3-nitropropionic acid-induced striatal damages revealed by cell-type-selective inactivation. *The Journal of Neuroscience*, 2006, 26 (44): 11371-11378.

[11] Wei H, Sun JF, Li SL, *et al.* Medical Laboratory Animal Science, 1st ed, Sichuan Science Technology Publishing House, 1998.

魏泓, 孙敬方, 李双良, 等. 医学实验动物学, 四川科学技术出版社出版, 1998 年 3 月第一版.



2008 年中国微生物学会及各专业委员会学术活动计划表

序号	会议名称	筹办单位	时间	人数	地点	联系人
1	“病毒性肝炎：成就与挑战”国际研讨会	中国微生物学会病毒学专业委员会	4 月	200 人	福建 厦门	杜海莲 0592-2183111
2	医学真菌学学术研讨会	中国微生物学会真菌学专业委员会	6 月	200 人	湖北 武汉	郑岳巨 02761151310
3	疫苗质量控制与安全性评价会议	中国微生物学会生物制品专业委员会	6 月	200 人	北京	白东亭 01067095727
4	中日病毒学会议	中国微生物学会病毒学专业委员会	6 月	100 人	日本 东京	李昌 lichang78@163.com
5	第二届全国农业微生物研究及其产业化研讨会暨第十一届全国杀虫微生物学术讨论会	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	6 月	150 人	内蒙古	孙明 027-87283455
6	第三届微生物资源与环境修复学术会议	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	7-8 月	150 人	山东 烟台	朱昌雄 010-68919561
7	全国第二届海洋微生物研讨会	中国微生物学会海洋微生物学专业委员会	8 月	150 人	山东 济南	张玉忠 13969185852
8	中国病原生物学（医学微生物学和寄生虫学）教育教学研讨会	中国微生物学会	8 月	100 人	上海	董珂 021-63846590-776712
9	全国第六届感染与免疫和生物制品学术研讨会	中国微生物学会医学微生物与免疫学专业委员会	8 月	100 人	吉林 延吉	孟繁平
10	第二届全国微生物基因组学学术研讨会	中国微生物学会基础、农业微生物学专业委员会	8 月	100 人	上海	李林 027-87286952
11	全国第 16 次干扰素与细胞因子学术研讨会	中国微生物学会干扰素专业委员会	10 月	100 人	内蒙古	范中善 13671683629
12	第十届中-日-韩国际酶工程会议	中国微生物学会酶工程专业委员会	10 月	150-200 人	韩国 济州岛	欧阳浩森 010-64807420
13	第十一次全国环境微生物学学术研讨会	中国微生物学会环境微生物学专业委员会	10 月	150-200 人	江苏 无锡	蒋建东 025-84396348
14	感染与健康研讨会	中国微生物学会微生物毒素专业委员会	10 月	200 人	广东 广州	姚永明 010-66867394
15	第七届全国青年微生物学者学术研讨会暨全国青年微生物遗传学术研讨会	中国微生物学会基础微生物学专业委员会	10 月	100 人	山东 济南	李越中 0531-88564288
16	2008 年中国微生物学会学术年会	中国微生物学会	11 月	400 人	海南 海口	王旭 010-64807200
17	链霉菌分子生物学学术研讨会	中国微生物学会分子微生物学与生物工程专业委员会	11 月	80-100 人	海南 海口	朱春宝 021-62470561