

酿酒酵母中 α -synuclein 蛋白聚集诱导的 细胞毒性的研究

于珊珊** 李 艳** 陈冠军 刘巍峰*

(山东大学微生物技术国家重点实验室 济南 250100)

摘 要: 帕金森症(Parkinson's Disease, PD)是当今最为广泛的神经退行性疾病之一。研究显示, α -synuclein 蛋白在帕金森症的发生过程中有着非常重要的作用。以酿酒酵母为模式系统,通过调控 α -synuclein 蛋白在胞内的表达量或改变其它一些可能影响 α -synuclein 聚集状态的因素,对 α -synuclein 蛋白在帕金森症的发生过程中可能的细胞毒性机制进行了研究。结果表明, α -synuclein 蛋白的高水平表达会明显增强该蛋白因聚集所诱导的细胞毒性,而且这种细胞毒性与细胞代谢状态明显相关;超表达酿酒酵母分子伴侣 YDR533C 可以明显缓解 α -synuclein 蛋白异源表达对酵母生长的抑制。上述结果表明,蛋白折叠与折叠过程中的质量控制在 α -synuclein 蛋白聚集过程中有着非常重要的作用。

关键词: 帕金森病, α -synuclein 蛋白, 酿酒酵母, 细胞毒性

Characterization of Aggregation-induced Toxicity by α -synuclein in Yeast

YU Shan-Shan ** LI Yan ** CHEN Guan-Jun LIU Wei-Feng *

(State Key Laboratory of Microbial Technology, School of Life Science, Shandong University, Jinan 250100)

Abstract: Parkinson's disease (PD) is the most common neurodegenerative movement disorder and α -synuclein plays an important role in its development. Using the genetically tractable *Saccharomyces cerevisiae* as a model system, the phenotypic repercussions and potential mechanisms of α -synuclein-induced cytotoxicity are characterized through modulating its expression level and other cellular factors. Aggregation-induced toxicity is more dramatic upon elevated expression of α -synuclein than that induced at moderate levels of expression. The induced toxicity is also enhanced by reagents such as dimethyl sulfoxide, which increase intracellular levels of phospholipid and membrane, as well as ferrous ions and hydrogen peroxide, both of which cause oxidative stresses in yeast cells. In contrast, over-expression of yeast homologue of human chaperone DJ-1, YDR533C, markedly alleviate the inhibition of growth afflicted by exogenous expression of α -synuclein. Taken together, the data presented suggest a role for protein folding machinery together with quality control system in dealing with the aggregation of α -synuclein.

基金项目: 山东省优秀中青年科学家奖励基金项目(No. 2004B302011)

* 通讯作者: Tel: 0531-88364324; Fax: 0531-88565610; 信箱: weifliu@sdu.edu.cn

**两位作者对本文贡献相同

收稿日期: 2007-06-07; 接受日期: 2007-07-16

Keywords: Parkinson’s disease, α -synuclein, *Saccharomyces cerevisiae*, Cytotoxicity

帕金森症(Parkinson’s Disease, PD)是当今最为广泛的神经退行性疾病之一,其致病机理复杂。 α -synuclein 是一类主要在神经组织中表达的分子量较小,但结构上相关的蛋白家族成员,它是帕金森病人脑内路易体(Lewy body)中纤维状聚集结构的主要成分,从而暗示了该蛋白在帕金森病发生形成过程中的重要性^[1,2,3]。

在 α -synuclein 纤维化的过程中,会形成一类被称为初原纤维的 α -synuclein 寡聚体中间构象,这种结构可以引起细胞膜的瞬时透性,从而改变细胞的内环境而引发细胞凋亡^[4,5,6]。在体外, α -synuclein A53T 突变体能够促进这种寡聚体的形成,而且表达 A53T α -synuclein 的细胞比表达野生型 α -synuclein 的细胞形成寡聚体的时间要早^[7]。尽管体内是否真正存在寡聚体中间构象及它造成细胞毒性的准确机制还有待于进一步核实,但许多实验结果都暗示可溶性的非纤维寡聚前体引起的细胞毒性很可能是引起多巴胺神经元丢失并引发帕金森病形成的直接原因。 α -synuclein 作为膜结合蛋白很可能参与突触囊泡和突触转运的再循环。体外研究表明,与膜结合的 α -synuclein 容易发生由无规则卷曲到富含 螺旋构象的结构转换,并且比可溶状态更容易

发生聚集^[8,9]。此外,研究表明活性氧也能够增强 α -synuclein 的细胞毒性,它能够直接产生硝化修饰的 α -synuclein 或是促进多巴胺加合物的形成,这两种形式不仅可以促进寡聚体的形成,而且对形成的多聚体还具有稳定作用^[10,11]。

由于许多基本的细胞学过程,包括蛋白质折叠和质量控制体系、膜运输及细胞的胁迫反应在高等动物和酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)中都是高度保守的,所以以酵母菌为模式系统对许多神经退行性疾病如克雅氏病等的致病机制进行的研究均取得了很好的研究结果^[12]。本实验通过控制整合到酵母染色体的 α -synuclein 基因的拷贝数,实现 α -synuclein 胞内不同水平的可控表达,并对因不同表达水平的 α -synuclein 聚集诱导的细胞毒性而造成的菌体生长抑制进行了研究;同时还测试了多种可能改变胞内脂质含量或引起氧化胁迫的化学因素对 α -synuclein 细胞毒性的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 质粒载体与菌株: 本实验所用的载体与菌株见表 1。

表 1 实验所用菌种和质粒
Table 1 Strains and plasmids used in this study

菌种 Strains	基因型 Genotype	来源 Source or reference
DH5	F' <i>Phi80dlacZ DeltaM15 Delta(lacZYA-argF)U169 deoR recA1 endA1 hsdR17(rK-mK+)phoA supE44 lambda- thi-1</i>	实验室保存
W303-1a	Mat a <i>can1-100 ade2-1 his3-11 trp1-1 ura3-1 leu2-3,112</i>	实验室保存
质粒(Plasmids)	质粒型(Type of plasmids)	
pRK-Wtsyn		[7]
pRK-A53Tsyn		[7]
pYES2	2 μ , URA3	Invitrogen
pRS304	Integrative, TRP1	[24]
pRS306	Integrative, URA3	[24]
pRS425	2 μ , LEU	[24]
pYES2- SynWT	2 μ , URA3	This study
pYES2- SynA53T	2 μ , URA3	This study
pRS304GAL- SynWT	Integrative, TRP1	This study
pRS304GAL- SynA53T	Integrative, TRP1	This study
pRS306GAL- SynWT	Integrative, URA3	This study
pRS306 GAL- SynA53T	Integrative, URA3	This study
pRS425GAL- <i>YDR533C</i>	2 μ , LEU	This study

1.1.2 试剂: 实验所需的所有分子试剂如限制性内切酶、T4 DNA 连接酶、DNA Marker 等均购自 TaKaRa 公司。所有引物均由上海博亚生物技术公司合成。其余化学试剂为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 酵母菌株培养和转化: 野生型酵母菌 W303-1a 用 YPD 培养基培养。酿酒酵母完全合成培养基(synthetic complete medium, SD)为 1.7 g/L 无氨基酸的酵母基础氮源(yeast nitrogen base, YNB)、5 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、20 g/L 葡萄糖。 α -synuclein 蛋白被诱导表达时, 相关转化子被接种到以半乳糖为碳源的酵母完全合成培养基(SG)。所有的培养条件都为 30℃、200 r/min 振荡培养。酵母转化采用 LiAc/PEG 方法^[13]。多拷贝表达 α -synuclein 或 YDR533C 的质粒转化重组子在不含尿嘧啶或亮氨酸的 SD-URA 或 SD-LEU 培养基上筛选获得, 并经过质粒提取反转化大肠杆菌验证; 单拷贝表达 α -synuclein 的整合转化子分别在不含尿嘧啶或色氨酸的 SD-TRP(pRS304)或 SD-URA(pRS306)的培养基上筛选获得; 双拷贝表达 α -synuclein 的整合转化子在 SD-URA-TRP 培养基上筛选获得。所有整合转化子均经染色体 PCR 验证。

1.2.2 质粒构建: WT-syn 和 A53T-syn 基因分别利用引物 F1 (5' CCGAAGCTTATAATGGATGTATTCATGAAAGG3') 和 R1 (5' CGCTCTAGA TTAGGCTTCAGGTTCTAG TC 3'), 以质粒 pRKWT-syn 与 pRK-A53Tsyn 为模板扩增获得。PCR 扩增产物经 HindIII 和 XbaI 双酶切后连接至经同样双酶切的 pYES2 载体中, 从而构建获得可受半乳糖诱导表达的多拷贝表达载体 pYES2-WT-syn(A53T-syn)。

以 pYES2-WT-syn 或 pYES2-A53T-syn 为模板, 利用引物 F2 (5' CGCGAGCTCA CGGATTAGAA-GCCGCCG 3') 和 R2 (5' CCGGGTACCGCAAATTAAAGCCTTCGAG 3') 扩增带有 GAL1 启动子的 WT-syn 和 A53T-syn 基因表达盒。扩增的 PCR 片段经 SacI 和 KpnI 双酶切后连接至经同样双酶切的整合质粒 pRS304 和 pRS306 中, 从而获得整合表达载体 pRS304-WT-syn(A53T-syn)和 pRS306-WT-syn(A53T-syn)。

以酵母菌 W303 染色体为模板, 利用引物 F3 (5' CGGGTACCATGGCCCC AAAAAAGTTTTAC 3') 和 R3 (5' GCTCTAGATCAGTT TTTTAAAGC-

GTC GATGG 3') 扩增获得 YDR533C 基因。PCR 产物经 BamHI 和 XbaI 双酶切后连接至经同样双酶切的 pYES2 载体中, 构建获得具有可诱导的多拷贝表达载体 pYES2-YDR533C。带有 GAL1 启动子和 CYC1 终止子的 YDR533C 完整表达盒通过引物 F4 (5' AAGGAAAAAGCGGCCGACGGATTAG-AAGCCGCCG 3') 和 R4 (5' CCGCTCGAGGCAA-ATTAAAGCC TTCGAG 3') 扩增后转移到 pRS425 质粒中, 构建获得表达载体 pRS425-YDR533C。

1.2.3 生长曲线测定: 相关转化重组菌株用 SD 液体培养基活化后, 转接到新鲜的 SG 液体培养液中, 并使其初始 OD 值相同, 30–200 r/min 培养, 定时测定各菌株在 600 nm 的吸光值。

1.2.4 不同生长条件实验: 相关转化重组菌株用 SD 液体培养基活化后, 转接到新鲜的分别含有 1% DMSO 或 20 mmol/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 或 0.8 mmol/L H_2O_2 的 SG 培养液中, 并使其起始 OD 值相同, 30–200 r/min 培养, 一定时间后测定各菌株在 600 nm 的吸光值。所有实验均至少重复 3 次。

2 结果

2.1 α -synuclein 蛋白诱导的细胞毒性与其在酵母中的表达量相关

为了分析 α -synuclein 蛋白的细胞毒性, 野生型 α -Synuclein 蛋白及临床相关突变体 α -Synuclein A53T 蛋白分别以多拷贝及整合到染色体的单拷贝和双拷贝形式在酵母中进行表达, 所构建的质粒图谱见图 1。在以葡萄糖为碳源而抑制 α -synuclein 蛋白表达的情况下, 所有的转化子都能够正常生长; 而当同一转化子转移到半乳糖为碳源诱导 α -Synuclein 蛋白表达时, 细胞生长会受到不同程度的抑制, 说明 α -Synuclein 蛋白的表达对细胞有一定的毒性(图 2)。与单拷贝形式表达 α -synuclein 时对细胞生长影响轻微不同, 双拷贝形式表达的 α -synuclein 几乎能完全抑制菌体的生长(图 2a, 2b)。多拷贝形式表达的 α -synuclein 对菌体生长的影响程度介于上两者之间, 但 α -Synuclein A53T 突变体蛋白的抑制效果要明显强于野生型, 其效果几乎和双拷贝的 α -synuclein A53T 相同(图 2c)。

2.2 酵母中 α -synuclein 诱导的细胞毒性与胞内脂质水平相关

为了检测脂质生物合成对 α -Synuclein 聚集态

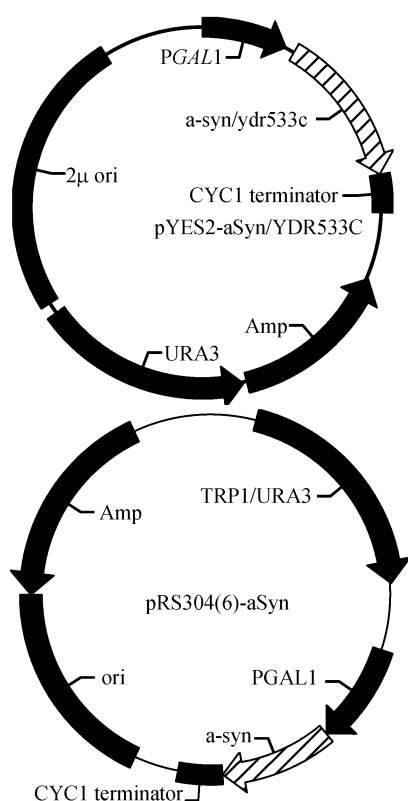


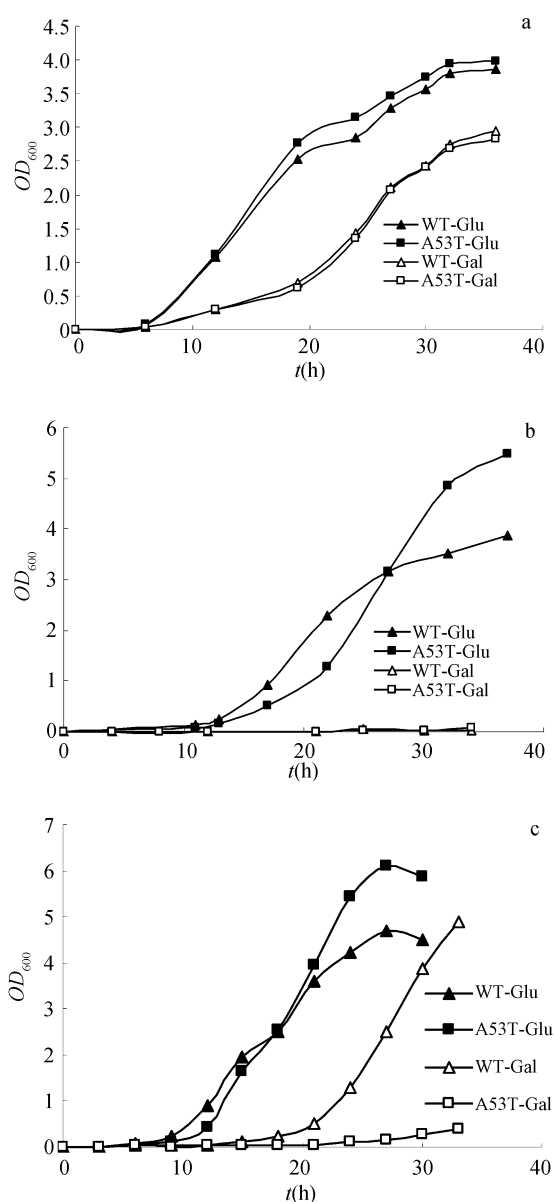
图1 重组质粒图谱

Fig.1 Maps of recombinant plasmids

形成的影响,用有利于促进酵母中磷脂的生物合成和细胞内膜增殖的 DMSO 来处理单拷贝表达 α -synuclein WT 和 A53T 的重组酵母菌株。在 SD 培养基中,当 DMSO 的浓度达到 1% 时,菌体生长正常;而在 SG 培养基中,1% 的 DMSO 能够明显的抑制菌体的生长(图 3)。其中,因 α -Synuclein WT 诱导表达导致的细胞抑制作用要明显强于 α -Synuclein A53T,这可能与 α -Synuclein A53T 与脂质膜的相互作用更强,从而更容易从毒性的寡聚体迅速转化为无毒性的纤维化多聚体有关。

2.3 酵母中 α -Synuclein 诱导的细胞毒性可被胞内高水平的氧化状态增强

许多研究表明,活性氧对帕金森症的发生形成有着非常重要的作用,而动物实验亦表明,一些能抑制线粒体复合物的杀虫剂和环境毒素能够导致帕金森症^[3]。为了检测酵母细胞内氧化状态对 α -Synuclein 诱导的细胞毒性的影响,分别以双氧水或硫酸亚铁进行处理单拷贝形式表达 α -synuclein WT 和 A53T 的酵母菌株。结果显示,当 H_2O_2 和

图2 α -synuclein 蛋白的表达抑制酵母菌生长Fig.2 Expression of α -synuclein in yeast incurs growth inhibition.

W303-1a cells carrying one-copy (a) or two-copy (b) of α -syn integrated into its chromosome, or with α -syn on an episomal plasmid (c) were first cultured in SD medium. Cells were taken to inoculate a fresh culture in SG medium containing 2% galactose at the same starting OD_{600} . Optical density at 600 nm was read at the indicated time intervals.

$FeSO_4$ 的终浓度分别为 0.8 mmol/L 和 20 mmol/L 时,在 SD 培养基中菌体的生长几乎不受影响;而在 SG 培养基中,相同浓度的 H_2O_2 和 $FeSO_4$ 却能明显地抑制菌体的生长,而且 α -Synuclein WT 的抑制作用要比 α -Synuclein A53T 强(图 4a, 4b)。

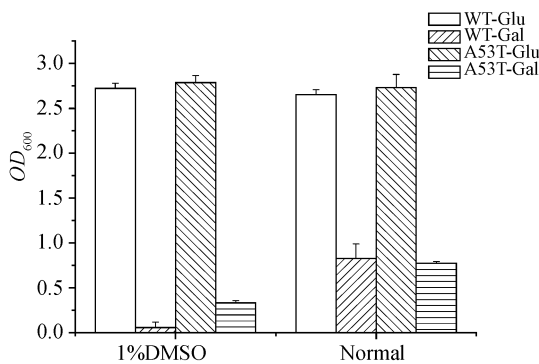


图3 二甲亚砷增强 α -synuclein 诱导的细胞毒性
Fig.3 Dimethyl sulfoxide enhances the α -synuclein-induced cytotoxicity
W303-1a cells carrying one-copy of α -syn (WT or A53T) integrated into its chromosome were inoculated into either SD with 2% glucose or SG medium with 2% galactose containing a final concentration of 1% (V/V) DMSO. Optical density at 600 nm was determined after culturing at 30 °C for 24h.

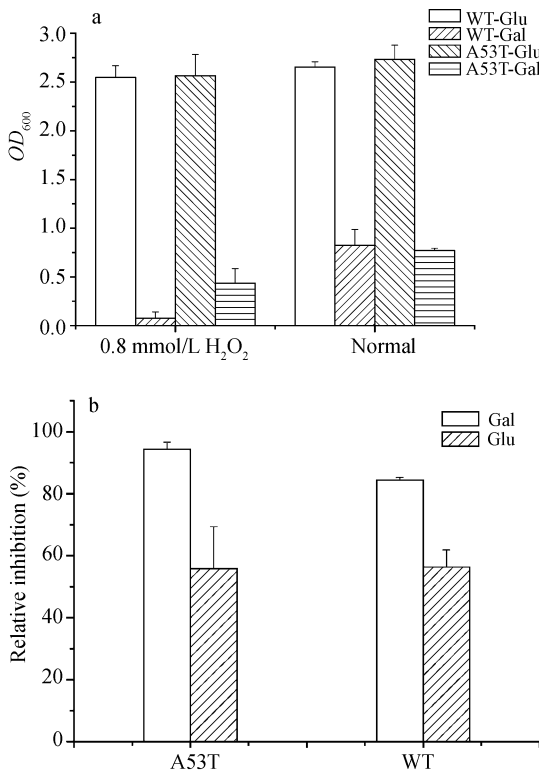


图4 氧化胁迫提高 α -synuclein 诱导的细胞毒性
Fig. 4 Oxidative stress increases the α -synuclein-induced cytotoxicity
W303-1a cells carrying one-copy of α -syn (WT or A53T) integrated into its chromosome were inoculated into either SD with 2% glucose or SG medium with 2% galactose containing a final concentration of either 0.8 mmol/L H₂O₂(a) or 20 mmol/L FeSO₄(b). Optical density at 600nm was determined after culturing at 30°C for 24h and relative inhibition was calculated by dividing the value of OD₆₀₀ in the absence of by value of OD₆₀₀ in the presence of FeSO₄.

2.4 共表达分子伴侣 YDR533C 可以减缓 α -Synuclein 介导的细胞毒性

超表达分子伴侣的转基因果蝇研究及遗传学分析显示分子伴侣很可能与蛋白质降解途径在帕金森症发生过程中有着非常重要的作用^[14]。为研究酵母中类 DJ-1 分子伴侣在 α -Synuclein 错误折叠及聚集态形成过程中的可能作用, 在单拷贝表达 α -Synuclein WT 和 A53T 的酵母菌株中, 共表达了酵母中 DJ-1 的同源蛋白 YDR533C。结果显示, 当 YDR533C 超表达时, 能显著的减轻 α -Synuclein 对菌体生长的抑制 (图 5a, 5b), 而敲除单拷贝表达 α -Synuclein WT 和 A53T 酵母菌内源的 YDR533C 基因, 导致菌体在半乳糖诱导的条件下生长明显受到抑制, 其抑制程度和表达双拷贝的 α -Synuclein 相

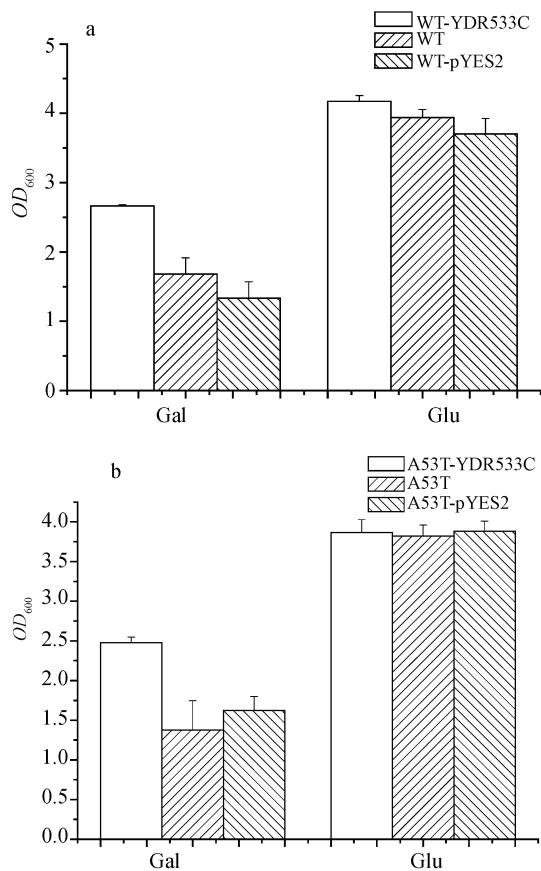


图5 共表达 YDR533C 缓解 α -synuclein 介导的细胞毒性
Fig.5 Coexpression of YDR533C alleviates α -synuclein-mediated toxicity to yeast. W303-1a cells carrying one-copy of α -syn (WT or A53T) integrated into its chromosome were transformed with either pYES2-YDR533C or the control plasmid, pYES2. Relative transformants were inoculated into either SD with 2% glucose or SG medium with 2% galactose with the same starting OD₆₀₀. Optical density at 600nm was determined after culturing at 30°C for 24h

似,从而表明 YDR533C 很可能参与了包括 α -Synuclein 在内的相关蛋白质的折叠过程。

3 讨论

通过控制整合到酵母染色体中 α -Synuclein 基因的拷贝数来调控 α -Synuclein 蛋白的表达水平,从而建立了一个可以用来表征 α -Synuclein 细胞毒性的酵母模式系统。在这个系统中,诱导表达的 α -Synuclein 对酵母细胞具有一定毒性,从而可以明显地抑制细胞的生长。其中,双拷贝形式表达 α -Synuclein 的酵母细胞几乎完全丧失了生长能力,这和最近的报道结果是一致的^[12]。用 DMSO 或是能引起细胞氧化胁迫的双氧水和硫酸亚铁处理适度表达 α -Synuclein 的细胞,能够加剧 α -Synuclein 对细胞生长的抑制作用;相反,共表达 DJ-1 同源蛋白 YDR533C 则能减轻 α -Synuclein 对细胞生长的抑制作用。有意思的是,当以多拷贝的质粒形式表达时,WT α -Synuclein 比 A53T 突变蛋白对菌体的抑制作用要强,这很可能 α -Synuclein A53T 比 WT 更容易将毒性更强的初原纤维形式快速转化为无毒的纤维形式有关。

自 Outeiro 于 2003 年首次报道以酵母细胞体系来研究的生物学和病理学功能以来,很多基于酵母模式体系的研究开始初步揭示 α -Synuclein 所可能影响的细胞生物学过程,并且这种通过酵母模型所发现的可能毒性机制在哺乳动物模型中也得以证实^[15,16]。此外,此类可以表征 α -Synuclein 毒性过程的酵母模型也开始被用于有治疗潜力的小分子化合物的筛选^[17]。目前,国内在此方面的研究几乎为空白。我们在成功建立 α -Synuclein 酵母模型的基础上,对可能影响 α -Synuclein 细胞毒性的因素,包括蛋白表达水平、细胞脂质代谢及氧化状态等进行了较为系统的研究,初步证实了很多已报道的有关 α -Synuclein 的体外研究结果。此外,研究表明细胞的蛋白质量控制体系(QC)包括分子伴侣,在维持 α -Synuclein 的结构平衡中也发挥着重要的作用^[2,18,19,20]。尽管遗传学分析发现哺乳动物中与细菌 HSP31 同源的蛋白--DJ-1 与常染色体隐性帕金森症相关,但然而到目前为止,在单细胞模式生物中对 DJ-1 的功能研究还没有报道,其准确的生物学功能也不清楚。我们的结果首次初步证实了与 DJ-1 具有高度同源性的酵母 YDR533C 作为分子伴侣在阻止 α -Synuclein 错误

折叠、聚集,以及由此引发的细胞毒性方面的潜在作用。综上所述,本研究报道的酵母模式系统不仅提供了在分子和细胞水平上深入研究 α -Synuclein 生物病理学功能及致病机制的可能性,而且也大规模筛选能干扰 α -Synuclein 蛋白病理学功能的潜在遗传和化学因素建立了一个理想平台。

参考文献

- [1] Cookson MR. The biochemistry of Parkinson's disease. *Annu Rev Biochem*, 2005, **74**: 29–52.
- [2] Eriksen JL, Dawson TM, Dickson DW, *et al.* Caught in the act: alpha-synuclein is the culprit in Parkinson's disease. *Neuron*, 2003, **40**(3): 453–456.
- [3] Dawson TM, Dawson VL. Molecular pathways of neurodegeneration in Parkinson's disease. *Science*, 2003, **302**(5646): 819–822.
- [4] Kaye R, Sokolov Y, Edmonds B, *et al.* Permeabilization of lipid bilayers is a common conformation-dependent activity of soluble amyloid oligomers in protein misfolding diseases. *J Biol Chem*, 2004, **279**(45): 46363–46366.
- [5] Glabe CG, Kaye R. Common structure and toxic function of amyloid oligomers implies a common mechanism of pathogenesis. *Neurology*, 2006, **66**(2 Suppl 1): S74–S78.
- [6] Caughey B, Lansbury PT. Protofibrils, pores, fibrils, and neurodegeneration: separating the responsible protein aggregates from the innocent bystanders. *Annu Rev Neurosci*, 2003, **26**: 267–298.
- [7] Lee MK, Stirling W, Xu Y, *et al.* Human alpha-synuclein-harboring familial Parkinson's disease-linked Ala-53 --> Thr mutation causes neurodegenerative disease with alpha-synuclein aggregation in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, **99**(13): 8968–8973.
- [8] Lee HJ, Choi C, Lee SJ. Membrane-bound alpha-synuclein has a high aggregation propensity and the ability to seed the aggregation of the cytosolic form. *J Biol Chem*, 2002, **277** (1): 671–678.
- [9] Zhu M, Li J, Fink AL. The association of alpha-synuclein with membranes affects bilayer structure, stability, and fibril formation. *J Biol Chem*, 2003, **278**(41): 40186–40197.
- [10] Conway KA, Rochet JC, Bieganski RM, *et al.* Kinetic stabilization of the alpha-synuclein protofibril by a dopamine-alpha-synuclein adduct. *Science*, 2001, **294**(5545): 1346–1349.
- [11] Giasson BI, Duda JE, Murray IV, *et al.* Oxidative damage linked to neurodegeneration by selective alpha-synuclein

- nitration in synucleinopathy lesions. *Science*, 2000, **290** (5493): 985–989.
- [12] Outeiro TF, Lindquist S. Yeast cells provide insight into alpha-synuclein biology and pathobiology. *Science*, 2003, **302**(5651): 1772–1775.
- [13] Gietz RD, Woods RA. Yeast transformation by the LiAc/SS Carrier DNA/PEG method. *Methods Mol Biol*, 2006, **313**: 107–120.
- [14] Auluck PK, Chan HY, Trojanowski JQ, *et al.* Chaperone suppression of alpha-synuclein toxicity in a *Drosophila* model for Parkinson's disease. *Science*, 2002, **295** (5556): 865–868.
- [15] Flower TR, Clark-Dixon C, Metoyer C, *et al.* YGR198w (YPP1) targets A30P alpha-synuclein to the vacuole for degradation. *J Cell Biol*, 2007, **177**(6): 1091–1104.
- [16] Cooper AA, Gitler AD, Cashikar A, *et al.* Alpha-synuclein blocks ER-Golgi traffic and Rab1 rescues neuron loss in Parkinson's models. *Science*, 2006, **313**(5785): 324–328.
- [17] Griffioen G, Duhamel H, Van Damme N, *et al.* A yeast-based model of alpha-synucleinopathy identifies compounds with therapeutic potential. *Biochim Biophys Acta*, 2006, **1762**(3): 312–318.
- [18] Cuervo AM, Stefanis L, Fredenburg R, *et al.* Impaired degradation of mutant alpha-synuclein by chaperone-mediated autophagy. *Science*, 2004, **305**(5688): 1292–1295.
- [19] Flower TR, Chesnokova LS, Froelich CA, *et al.* Heat shock prevents alpha-synuclein-induced apoptosis in a yeast model of Parkinson's disease. *J Mol Biol*, 2005, **351**(5): 1081–1100.
- [20] Wilson MA, St Amour CV, Collins JL, *et al.* The 1.8-Å resolution crystal structure of YDR533Cp from *Saccharomyces cerevisiae*: a member of the DJ-1/ThiJ/PfpI superfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, **101**(6): 1531–1536.

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	郑岳臣 027-61151310
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 010-67095727
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学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

(下转 p.301)