

自噬对鼠伤寒沙门菌所致的巨噬细胞 凋亡的影响

吴淑燕 李琼 储元元 李媛渊 黄瑞* 秦正红*

(苏州大学医学部基础医学与生物科学学院 江苏 苏州 215123)

摘要: 为探讨鼠伤寒沙门菌与巨噬细胞共作用时细胞自噬对凋亡的影响, 用加入自噬诱导剂雷帕霉素(Rapamycin, RAPA)和未加 RAPA 的 RPMI 1640 过夜培养小鼠腹腔巨噬细胞 J774A.1, 以携带一分子量为 100 kb 毒力质粒的鼠伤寒沙门菌标准毒株 SR-11 为受试菌。首先测定 RAPA 对菌量及细胞活性的影响, 然后建立细胞感染模型, 在细菌与细胞共作用后动态观察 24 h, 不同时间点检测细胞超微结构变化、自噬泡的形成、Beclin-1 和 Bcl-2 的表达、细胞存活率和胞内活菌计数以及细胞凋亡情况。结果显示, RAPA 单独作用于细菌或细胞时菌量及细胞活性均无变化; 而对细胞感染模型而言, RAPA 作用与否细胞内的细菌数及细胞存活率均有显著改变, RAPA 可明显降低胞内活菌数及其所致的巨噬细胞凋亡率($P < 0.05$); RAPA 干预组在细菌与细胞共作用早期, 部分细菌可被双层膜包裹形成自噬泡, 细胞超微结构正常; Beclin-1 的表达量增加, 而 Bcl-2 的表达量降低; 后期细胞破坏程度明显轻于未用 RAPA 组。以上结果提示, 通过调控细胞自噬水平以减轻宿主细胞凋亡, 可作为防治某些感染性疾病的新途径。

关键词: 鼠伤寒沙门菌, 巨噬细胞, 自噬, 凋亡

The Influence of Autophagy on Apoptosis of Macrophage Induced by *Salmonella typhimurium*

WU Shu-Yan LI Qiong CHU Yuan-Yuan LI Yuan-Yuan HUANG Rui*
QIN Zheng-Hong*

(Medical College of Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215123, China)

Abstract: In the present study, the influence of autophagy on apoptosis of macrophage induced by *Salmonella typhimurium* was investigated. Murine macrophage-like cell line J774A.1 was cultivated with RPMI 1640 containing autophagy inducer rapamycin (RAPA) or not overnight, the standard *Salmonella typhimurium* virulent strain SR-11 was used as the test bacterium. First, the influence of RAPA on bacteria growth and J774A.1 cells survival were detected, then the incubation of J774A.1 and SR-11 were dynamically tracked 24 h. Cell ultrastructure, the formation of autophagic vesicles, Beclin-1 and

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 30972768); 中国博士后特别资助和面上项目(No. 200902529, 20080430178); 江苏省高校自然科学基金项目(No. 08KJB310009); 苏州市社会发展基金项目(No. SS08025)

*通讯作者: Tel: 86-512-65880132; ✉ hruisdm@163.com; zhqin5@hotmail.com © 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>
收稿日期: 2010-01-21; 接受日期: 2010-03-08

Bcl-2 expression, cell survival rate, the number of intracellular viable bacteria and cell apoptosis were detected at different time. The results showed that RAPA didn't affect bacteria growth and the survival of J774A.1 cells. However, in cellular infectious model, RAPA could significantly reduce the number of intracellular viable bacteria and the rate of macrophage apoptosis, thereby increasing cell survival ($P < 0.05$). Some bacteria was wrapped in the autophagic vacuoles of J774A.1 cells during inchoate infectious stage, and cellular ultrastructure was normal after RAPA treatment. Moreover, the expression of Beclin-1 was increased while the expression of Bcl-2 was declined, and cells damage were significantly lighter in the late stage. All these results suggested that the regulation of cellular autophagy to lower the level of host cells apoptosis may be used as new ways of the prevention and control for some infectious diseases.

Keywords: *Salmonella typhimurium*, Macrophage, Autophagy, Apoptosis

鼠伤寒沙门菌(*Salmonella typhimurium*)主要经水和食物传播,可引起食物中毒、胃肠炎等肠道传染病,人群对鼠伤寒沙门菌普遍易感,其感染遍布全世界。2009年1月美国发生了“花生酱污染事件”,波及43个州,致多人死亡,最后在问题花生酱中证实了致病的鼠伤寒沙门菌的存在。在我国该菌作为一种常见的食品污染源所引起的感染发病率亦明显增高。深入开展沙门菌发病机制的研究,对预防感染及控制其流行具有重要的意义。

自噬是不同于凋亡的另一种程序性细胞死亡,是当今国际研究的热点,在我国自噬研究也正蓬勃兴起,但有关病原菌感染与细胞自噬的研究还鲜见报道。自噬对胞内菌具有双重作用,一方面是天然免疫应答的重要组成部分,宿主细胞通过自噬途径可将入侵的病原体降解,从而维持自身的稳定;另一方面某些胞内菌可以通过诱导细胞自噬而促进自身的存活^[1-2]。自噬这把“双刃剑”的分界线尚不明了,就感染性疾病而言,推测可能与感染的时间、过程和强度等因素有关。沙门菌作为兼性胞内菌,在宿主体内主要在单核吞噬细胞系统内生长繁殖并随之迁移。已有文献报道致病性沙门菌可诱导巨噬细胞(Macrophage, MΦ)凋亡,新近研究发现细胞自噬参与了鼠伤寒沙门菌感染的病理过程^[3],但有关沙门菌感染时自噬与凋亡之间的相互关系尚未见报道。本研究通过使用自噬诱导剂雷帕霉素(Rapamycin, RAPA)干预鼠伤寒沙门菌与巨噬细胞的相互作用,探讨沙门菌感染时细胞自噬对凋亡的影响,旨在为感染性疾病的防治和新药靶位的发现提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株及细胞株: 鼠伤寒沙门菌标准毒株

Salmonella typhimurium SR-11^[4](以下简称SR-11)由美国弗吉尼亚大学微生物学系许晓生教授惠赠,小鼠腹腔巨噬细胞株 MΦ J774A.1 由浙江大学医学院严杰教授惠赠。

1.1.2 主要试剂及仪器: RAPA、抗生素阿米卡星(Amikacin, AMK)和单磺酰戊二胺(Monodansylcadaverine, MDC)(Sigma公司), RPMI 1640 干粉(Gibco公司), 新生牛血清(Hyclone公司), Beclin-1 和 Bcl-2 抗体抗体(Cell Signaling公司), 细胞DNA含量检测试剂盒(南京凯基公司), Eclipse TE2000-U型倒置荧光显微镜(Nikon公司), PowerPac Basic电泳仪(Bio-Rad公司), FC500型流式细胞仪(Beckman-Coulter公司), H600透射电子显微镜(Hitachi公司)。

1.2 方法

1.2.1 RAPA 对细菌及细胞活性影响的测定: 将 MΦ J774A.1 分别用含 25 mg/L RAPA 和不含 RAPA 的 RPMI 1640 过夜培养,台盼蓝染色法计算活细胞数,检测 RAPA 对细胞活性的影响,同时用 Giemsa 染色法观察 RAPA 作用后细胞形态的变化;将鼠伤寒沙门菌 SR-11 分别用含 25 mg/L RAPA 和不含 RAPA 的 LB 液体培养基培养 16 h 至对数生长期, OD_{600} 测定菌液浓度,并做平板菌落计数,比较 RAPA 作用与否菌量的变化。各组均设 3 个复孔,且重复 3 次以上。

1.2.2 细胞分组和培养: 将 MΦ J774A.1 分为 3 组,即 SR-11 感染组, RAPA 干预的 SR-11 感染组和正常细胞对照组。参照文献^[5]和预实验结果, RAPA 干预组在细菌细胞共作用前,将细胞预先用含 25 mg/L RAPA 的 RPMI 1640 过夜处理。3 组细胞浓度调整至 5×10^5 个/mL,按 1 mL/孔加入 24 孔细胞培养

板,或将细胞浓度调整至 10^6 个/mL 加入细胞培养瓶进行培养,后者用于电镜及 Western blot 的检测。细胞培养至对数生长期后,SR-11 感染组、RAPA 干预的 SR-11 感染组加入细菌。

1.2.3 细胞感染模型的制作: 参照文献[6],按感染复数 MOI 为 100:1 将培养至对数生长期的 SR-11 加入细胞,1500 r/min 离心 10 min,继而在 5% CO_2 、37°C 条件下共培养 1 h 后弃上清(此时即定为 0 点),加入含 100 mg/L AMK 的 RPMI 1640 作用 2 h 以去除胞外菌,然后将 AMK 浓度降为 10 mg/L,以抑制从感染细胞中释放至培养液中的细菌生长,继续培养 24 h,分别在 0、2、4、8、12 和 24 h 收集细胞进行检测。

1.2.4 透射电镜制样: 将细胞用 2.5%戊二醛固定 2 h,0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液漂洗,1%锇酸后固定 1 h,梯度丙酮脱水,环氧树脂包埋,超薄切片机切片,醋酸铀、柠檬酸铅染色后 H600 透射电镜下观察摄片。

1.2.5 自噬泡(Autophagy vacuoles, AVs)的检测: 用 MDC 荧光染色法^[7]。在细胞中加入含 MDC 50 $\mu\text{mol/L}$ 的工作液,5% CO_2 、37°C 孵育 10 min,磷酸盐缓冲液洗涤 2 次后,倒置荧光显微镜下 UV 激发,在激发滤色片 365 nm、分光镜 395 nm、吸收滤色片 420 nm 条件下观察摄片。

1.2.6 自噬蛋白 Beclin-1、抗自噬和抗凋亡蛋白 Bcl-2 的检测: 在细胞中加入裂解液后超声裂解细胞,12000 r/min 离心 10 min,吸取上清后 BCA (Bicinchoninic acid)法蛋白定量。取 45 μg 上样进行 10% SDS-PAGE 电泳后,将蛋白转移至硝酸纤维素膜(90 V 恒压 70 min);5%脱脂奶粉室温封闭 1 h,加入鼠抗 β -actin (1:5000 稀释)、鼠抗 Bcl-2 (1:600 稀释)和兔抗 Beclin-1 (1:500 稀释) 4°C 冰箱过夜;次日室温孵育 2 h, TBST 洗涤 3 次,羊抗鼠 IgG-HRP (1:5000 稀释),羊抗兔 IgG-HRP (1:5000 稀释) 室温孵育 90 min, TBST 洗涤 3 次,化学发光法显影,检测 Beclin-1 和 Bcl-2 蛋白的表达。

1.2.7 细胞存活率和胞内活菌数的测定: 细胞与细菌共作用后不同时间点,用细胞刮收集细胞并与培养液混匀后,台盼蓝染色法计数活细胞,取 3 个复孔的平均值作为活细胞数,细胞存活率=活细胞数/细菌作用前细胞数;同时将各时间点所收获的细胞用 0.1%的 Triton X-100 作用 3 min,破膜后通过系列

稀释法直接做平板菌落计数,每份标本一式 3 份,用 2 个不同稀释度(每个稀释度用 2 个培养皿),取其平均值作为 $J_{744A.1}$ 细胞内的活菌数。

1.2.8 细胞凋亡峰的检测: 按照试剂盒说明书操作。处于增殖周期中的细胞,根据其所处不同周期,其 DNA 含量亦不相同。发生凋亡的细胞失去部分 DNA,形成一个“亚 G_1 峰”(Sub- G_1 峰),与荧光染料 PI 结合后用流式细胞仪(Flow cytometer, FCM)检测其荧光强度,可反映细胞凋亡程度。实验中各组细胞的每个检测时间点均设 3 个复孔,实验重复 3 次以上。

1.2.9 统计学处理: 用 SPSS 15.0 进行统计学处理,数据以率(%)表示,组间差异比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 25 mg/L RAPA 对细菌及细胞活性的影响

本研究用台盼蓝染色法计数活细胞,因正常细胞排斥台盼蓝,而死亡细胞的通透性增加,可被台盼蓝染成蓝色,结果表明 25 mg/L RAPA 作用后, $M\Phi J_{774A.1}$ 的活细胞数与未用 RAPA 组无差异, Giemsa 染色法亦显示 RAPA 作用与否细胞形态无明显变化(图 1)。细菌系列稀释法和 OD 值测定结果表明 RAPA 对 SR-11 菌量无影响。

2.2 透射电镜结果

正常对照组巨噬细胞的细胞质,空泡少,细胞核染色质分布均匀。巨噬细胞与细菌共作用后 4 h,细胞内可见大量增殖的细菌, RAPA 干预后可见部分细菌被双层膜包裹形成自噬泡,细胞内细菌少于未加药物组;细胞与细菌共作用后期可见染色质边聚等凋亡改变, RAPA 作用后细胞病变减轻(图 2)。

2.3 自噬泡的检测

实验结果显示, RAPA 干预的 SR-11 感染组 $J774A.1$ 细胞浆内 2 h 和 4 h 有明显的表现为点状荧光颗粒的自噬泡,未用 RAPA 的 SR-11 感染组细胞内荧光呈非特异性弥散分布,细胞大小不一; 12 h 点状荧光颗粒减少, 24 h 荧光颗粒几乎消失, SR-11 感染组细胞结构松散,状态差,视野内可见到崩解的细胞碎片,而 RAPA 干预组多数细胞状态仍然较好(图 3)。

2.4 自噬蛋白 Beclin-1、抗自噬和抗凋亡蛋白 Bcl-2 的检测

Western blot 结果显示,用 RAPA 干预后在

SR-11 与 J774A.1 共作用的早期(0、2 和 4 h), Beclin-1 的表达量增加, 而 Bcl-2 的表达量低于未加 RAPA 组; 在细菌作用的后期(12 和 24 h), 两组细胞自噬蛋白 Beclin-1 均较低(图 4)。

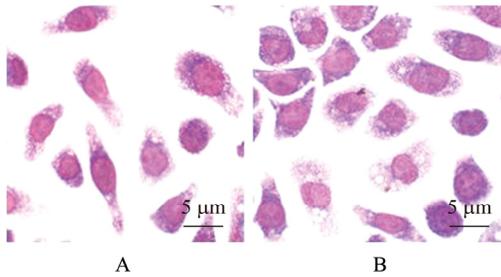


图 1 25 mg/L RAPA 作用与否细胞 Giemsa 染色结果
Fig. 1 Giemsa staining of J774A.1 with the treatment of RAPA

Note: A: J774A.1 cells cultured by RPMI 1640 without RAPA; B: J774A.1 cells cultured by RPMI 1640 containing 25 mg/L RAPA.

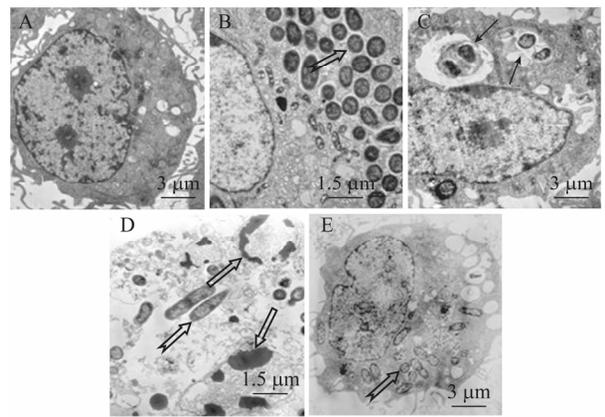


图 2 透射电镜观察细胞超微结构

Fig. 2 Ultrastructure of J774A.1 cells observed by transmission electron microscope

Note: A: Normal J774A.1 cell; B: J774A.1 infected by SR-11 at 4 h; C: J774A.1 infected by SR-11 with RAPA treatment at 4 h; D: J774A.1 infected by SR-11 at 24 h; E: J774A.1 infected by SR-11 with RAPA treatment at 24 h. \Rightarrow Bacterium; \rightarrow Autophagy vacuole; \Rightarrow Chromatin margination.

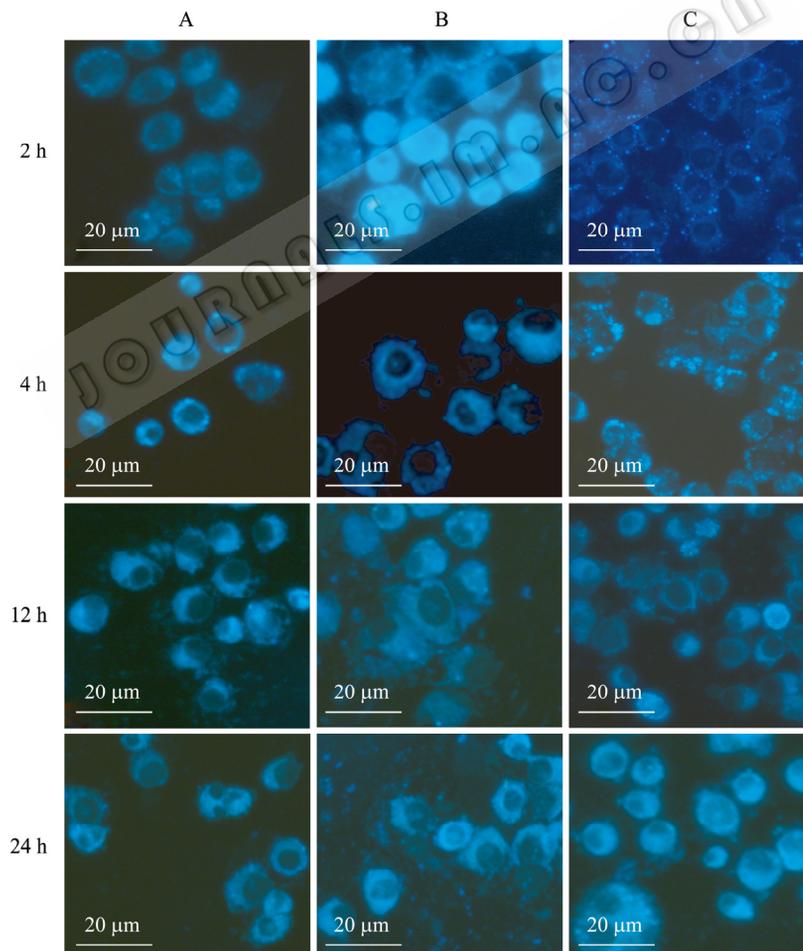


图 3 J774A.1 细胞 MDC 染色结果

Fig. 3 The results of J774A.1 staining with MDC

Note: A: Normal J774A.1 cell; B: J774A.1 infected by SR-11; C: J774A.1 infected by SR-11 with RAPA treatment.

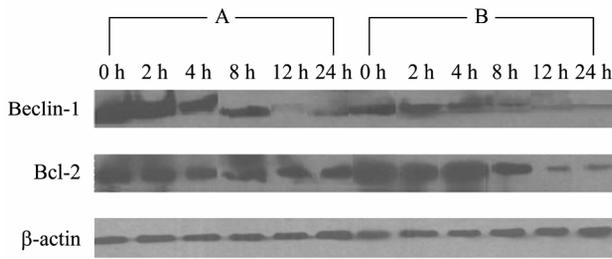


图4 Beclin-1 和 Bcl-2 蛋白 Western blot 结果

Fig. 4 The results of Western blot of Beclin-1 and Bcl-2

Note: A: J774A.1 infected by SR-11 with RAPA treatment; B: J774A.1 infected by SR-11.

2.5 J774A.1 存活率和胞内活菌计数

在 J774A.1 与细菌作用的各观测时间点, RAPA 干预与否细胞存活率从 4 h 起出现差异, RAPA 干预组的巨噬细胞存活率高于未用 RAPA 组 ($P < 0.05$) (图 5A); 细胞内活菌数的对数从 0 点起(加菌后 1 h)即呈现为 RAPA 干预组低于未用 RAPA 组 ($P < 0.05$) (图 5B)。

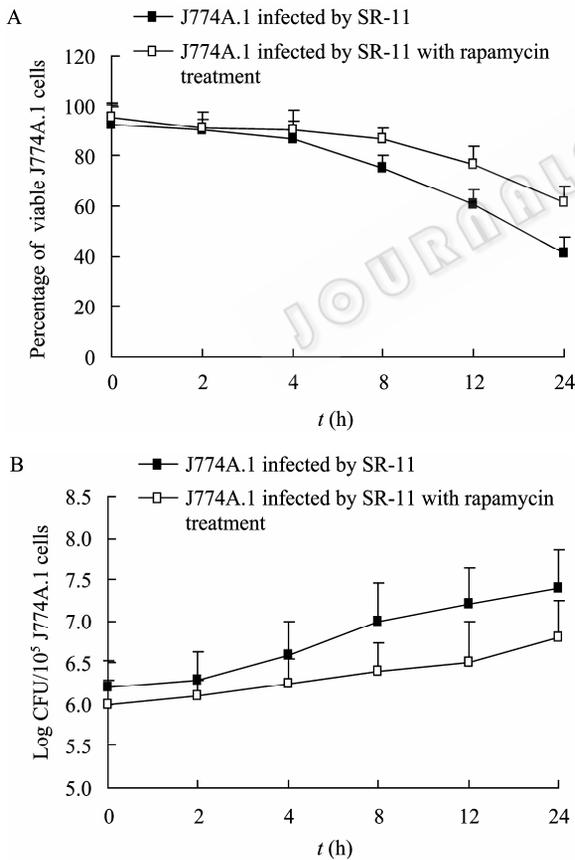


图5 RAPA 对细胞存活率和胞内活菌数的影响

Fig. 5 The effect of RAPA on J774A.1 viability and the survival of SR-11 in J774A.1

Note: The percentage of viable J774A.1 cells (A) and Log bacterial CFU per 10^5 J774A.1 cells (B) (y axis) and time after addition of amikacin (x axis) are indicated.

2.6 细胞凋亡峰(sub-G₁峰)的检测

结果显示, 细菌与细胞共作用后巨噬细胞的凋亡率随作用时间的延长而升高, 作用 24 h 后巨噬细胞的凋亡率高达 62%, RAPA 干预后在细菌与细胞共作用的后期(8 h 起)细胞凋亡率明显下降 ($P < 0.05$) (图 6)。

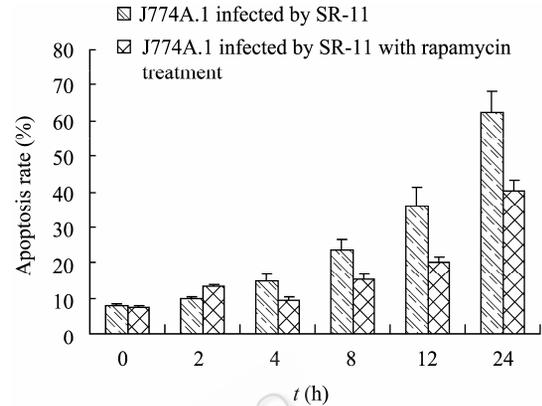


图6 RAPA 对细胞凋亡的影响

Fig. 6 The effect of RAPA on apoptosis of J774A.1 at different time

3 讨论

自噬是细胞维持稳态和对不良环境的一种防御机制, 参与清除细胞废物、结构重建和生长分化等, 同时自噬又参与多种疾病的病理过程, 无论是自噬过度还是不足都可导致疾病发生。自噬和凋亡虽是两种不同的程序性细胞死亡, 但两者的关系十分密切^[8]。自噬可以作为始因诱导凋亡, 抑制自噬会延缓凋亡的发生; 自噬也可以拮抗凋亡, 抑制自噬会增加细胞对凋亡信号的敏感性; 自噬和凋亡还可以相互独立, 抑制任何一条信号途径都会导致细胞进入另一种程序性细胞死亡。

MΦ 在机体非特异性和特异性抗感染免疫中均发挥重要作用, 前者表现为 MΦ 可直接吞噬和杀伤病原体, 后者表现为作为抗原递呈细胞其参与抗原的摄取、加工和处理过程, 并递呈给辅助性 T 细胞, 激发细胞和体液免疫反应。已有报道证实致病性沙门菌可通过诱导 MΦ 凋亡逃逸机体免疫系统的监测并加快其感染的进程^[9]。本研究中自噬诱导剂 RAPA 分别作用于细胞和细菌时, 对细胞活性和菌量均无影响, 而应用细胞感染模型发现 RAPA 可明显降低细胞内的活菌数和细菌所致的细胞凋亡率。在细菌

与细胞共作用的早期, 部分细菌可被双层膜包裹形成自噬泡, Beclin-1 的表达量增加, 细菌作用后期细胞超微结构特别是细胞凋亡的变化明显轻于未用 RAPA 组, 以上实验结果说明通过调控细胞自噬程度可导致细菌所诱导的细胞凋亡发生变化。沙门菌属兼性胞内菌, 胞内感染的病原体须抵抗宿主强烈的应答反应才能够在胞内增殖。

近年来越来越多的研究表明, 自噬在抗胞内细菌和病毒感染中发挥着天然免疫应答的作用: 一方面自噬促进机体对胞内感染病原体的清除; 另一方面, 胞内感染病原体通过某些机制逃避机体的自噬^[10-11], 如产单核细胞李斯特菌(*Listeria monocytogenes*), 通过释放溶血素破坏自噬体的膜结构, 进入到细胞浆中进行繁殖。结核分枝杆菌通过干扰自噬体与溶酶体的融合, 抑制自噬途径等。鼠伤寒沙门菌标准毒株 SR-11 携带一分子量为 100 kb 的毒力质粒, 该质粒上含有约 8 kb 的与细菌血清抗性、粘附和定居有关的高度保守序列——*spv* (*Salmonella* plasmid virulence genes)^[12]。已知其 5 个 ORF (*spvR*、*spvA-D*) 的 *spvB* 可编码 ADP 核糖基化酶, 诱导巨噬细胞凋亡^[13]。本实验中未用 RAPA 干预的 SR-11 感染组, 在早期用电镜及 MDC 染色法均未检测到细胞有明显的自噬泡形成, 后期细胞内活菌数及细胞凋亡率均明显高于 RAPA 干预组, 说明 SR-11 的毒力质粒不但可抵抗 MΦ 通过自噬途径对细菌的清除, 而且可以抵抗细胞通过自噬清除细菌所产生的促凋亡因子。用 RAPA 诱导自噬后, SR-11 及其毒性代谢产物会被转运到溶酶体中降解, 减轻细菌对细胞所造成的损伤。

Beclin-1 是自噬过程中一种重要的蛋白质, 是自噬启动的标志, 也是自噬重要的正性调节因子^[14]。RAPA 干预组在早期 Beclin-1 的表达明显增多, 而在后期两组细胞 Beclin-1 的表达均较低, 提示在感染性疾病的发生过程中自噬只是一个早期事件。尤其值得注意的是伴随着 Beclin-1 表达的增多, RAPA 干预后 Bcl-2 的表达却降低。Bcl-2 是一种抗凋亡蛋白, 同时对自噬调控也有重要作用, 它可与 Beclin-1 相互作用并阻断 Beclin-1 所介导的细胞自噬及自噬性死亡^[15]。有学者认为 Bcl-2 抗自噬和抗凋亡活性的表达与细胞所处环境以及自噬的程度有关。在细胞处于恶劣环境的初期, Bcl-2 会快速发生磷酸化,

使 Bcl-2/Beclin 1 复合物裂解, 激活 Beclin-1 所介导的细胞自噬, 清除细胞内的不利因素; 而当自噬被过度激活超过阈值不再利于细胞存活时, Bcl-2 的磷酸化则将抑制其抗凋亡的活性^[16], Bcl-2 在细胞凋亡与自噬过程中发挥着重要的双重作用。

自噬在抗感染免疫中的作用及其信号通路尚未明了, 本研究显示宿主细胞自噬程度可导致凋亡变化并影响感染进程, 下一步将继续深入探讨在感染性疾病中自噬作用的分子机制及其与细胞凋亡相互连接的信号通路, 有望通过调控细胞自噬和凋亡水平改变机体免疫功能, 探索防治感染发生和发展的新途径。

参 考 文 献

- [1] Birmingham CL, Higgins DE, Brumell JH. Avoiding death by autophagy: interactions of *Listeria monocytogenes* with the macrophage autophagy system. *Autophagy*, 2008, 4(3): 368-371.
- [2] Levine B, Deretic V. Unveiling the roles of autophagy in innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(10): 767-777.
- [3] Birmingham CL, Brumell JH. Methods to monitor autophagy of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Methods Enzymol*, 2009(452): 325-343.
- [4] Gulig PA, Curtiss RIII. Cloning and transposon insertion mutagenesis of virulence genes of the 100-kilobase plasmid of *Salmonella typhimurium*. *Infect Immun*, 1988, 56(12): 3262-3271.
- [5] Suzuki T, Franchi L, Toma C, et al. Differential regulation of caspase-1 activation, pyroptosis, and autophagy via Ipaf and ASC in Shigella-infected macrophages. *PLoS Pathog*, 2007, 3(8): e111.
- [6] 睦阳, 吴淑燕, 宋国蓉, 等. 伤寒沙门菌质粒诱导巨噬细胞凋亡. *细胞生物学杂志*, 2009, 31(3): 367-372.
- [7] Amer AO, Swanson MS. Autophagy is an immediate macrophage response to *Legionella pneumophila*. *Cell Microbiol*, 2005, 7(6): 765-778.
- [8] Madden DT, Egger L, Bredeisen DE. A calpain-like protease inhibits autophagic cell death. *Autophagy*, 2007, 3(5): 519-522.
- [9] Chanana V, Ray P, Rishi DB, et al. Reactive nitrogen intermediates and monokines induce caspase-3 mediated macrophage apoptosis by anaerobically stressed *Salmonella typhi*. *Clin & Exp Immunol*, 2007, 150(2): 368-374.
- [10] Campoy E, Colombo MI. Autophagy in intracellular bacterial infection. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1793(9): 1465-1477.

- [11] Huang J, Brumell JH. Autophagy in immunity against intracellular bacteria. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2009(335): 189–215.
- [12] Huang R, Wu S, Zhang X, *et al.* Molecular analysis and identification of virulence gene on pR_{ST98} from multi-drug resistant *Salmonella typhi*. *Cell & Mol Immunol*, 2005, 2(2): 136–140.
- [13] Browne SH, Hasegawa P, Okamoto S, *et al.* Identification of *Salmonella* SPI-2 secretion system components required for SpvB-mediated cytotoxicity in macrophages and virulence in mice. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2008, 52(2): 194–201.
- [14] Sun Q, Fan W, Zhong Q. Regulation of Beclin 1 in autophagy. *Autophagy*, 2009, 5(5): 713–716.
- [15] Pattingre S, Tassa A, Qu X, *et al.* Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. *Cell*, 2005, 122(6): 927–939.
- [16] Wei Y, Sinha S, Levine B. Dual role of JNK1-mediated phosphorylation of Bcl-2 in autophagy and apoptosis regulation. *Autophagy*, 2008, 4(7): 949–951.

2010 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	主办单位	时间	人数	地点	联系人
1	第三届生物资源与环境调控学术研讨会	中国微生物学会农业微生物专业委员会	5-6月	120	安徽合肥	李峰 010-82109561
2	曲霉和曲霉病研讨会	中国微生物学会真菌学专业委员会	5月 15-16日	150	天津	刘伟 010-83573056
3	第八届中日病毒学会议	中国微生物学会病毒学专业委员会	7月 4-7日	100	黑龙江哈尔滨	张凤民 0451-86669576 钟照华 0451-86685122
4	第八届全国微生物学青年学者学术研讨会	中国微生物学会基础微生物专业委员会	7月 21-24日	150	云南昆明	李文均 0871-5033335
5	第三届全国农业微生物研究及产业化研讨会	中国微生物学会农业专业委员会	8月	120	新疆阿拉尔	张利莉 agmicrob@mail.hzau.edu.cn
6	第二届生物资源学术研讨会	中国微生物学会微生物资源专业委员会	8月	150	黑龙江大庆	阮志勇 13301101231
7	第十一届全国土壤微生物学术讨论会暨第四届全国微生物肥料生产技术研讨会	中国微生物学会农业微生物专业委员会	9-10月	150	湖南长沙	李俊 010-68975891
8	合成生物学学术研讨会	中国微生物学会分子微生物学与生物工程专业委员会	9-10月	80	上海	朱春宝 021-62896804
9	2010年全国微生物毒素与创伤感染学术会议	中国微生物学会微生物毒素专业委员会	9月 17-20日	250	重庆	梁华平 023-68757404
10	第11届中日韩国际酶工程学术研讨会	中国微生物学会酶工程专业委员会	10月	150	四川成都	金城 010-64807425
11	病原进化与致病机制国际研讨会	中国微生物学会分析微生物学专业委员会	10月 22-25日	150	江苏镇江	倪斌
12	第十三次全国环境微生物学术研讨会	中国微生物学会环境微生物学专业委员会	10月	500	江苏南京	蒋建东 025-84395326
13	2010年中国微生物学会学术年会	中国微生物学会	10月	500	安徽	王旭 010-64807200
14	首届全国芽胞杆菌研究及产业化研讨会	中国微生物学会基础、农业微生物学专业委员会	10月	140	湖北武汉	翁锦周 bacillus@mail.hzau.edu.cn
15	第三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	11月	150	福建厦门	邵宗泽 micgeno@mail.hzau.edu.cn
16	第一届中国临床微生物学大会	中国微生物学会临床微生物学专业委员会	11月	500	贵州遵义	李宣霖 13976609892