

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.16.001

## Nesprin2 在小鼠睾丸各级生精细胞中的表达及其原核表达与纯化\*

曾娇辉<sup>1,2</sup> 伍勇<sup>1</sup> 蒋金泉<sup>2</sup> 王静芳<sup>3</sup> 邢晓为<sup>2Δ</sup>

(1 中南大学湘雅三医院检验科 湖南长沙 410013; 2 中南大学湘雅三医院医学实验中心 湖南长沙 410013)

**摘要 目的:**研究 Nesprin2 在小鼠睾丸各级生精细胞中的表达变化,并对 Nesprin2 进行原核表达和纯化,为进一步研究该蛋白在精子发生中的作用奠定基础。**方法:**制备小鼠睾丸细胞涂片,用 Nesprin2 特异性抗体进行细胞免疫荧光染色,观察 Nesprin2 在各级生精细胞中的表达;应用 RT-PCR 技术扩增 Nesprin2 C 端包含 KASH domain 的编码 85 个氨基酸的目的片段,将 PCR 产物插入到 PUCm-T 载体中测序,将测序验证后的目的片段亚克隆至原核表达载体 PGEX-4T-1 中,转化大肠杆菌 BL21, IPTG 诱导表达。对 GST-Nesprin2 C85 融合蛋白进行纯化,Western blot 进行验证。**结果:**免疫荧光检测结果发现, Nesprin2 在小鼠睾丸各级生精细胞中均有表达,主要分布在核膜及其周围,在减数分裂过程中 Nesprin2 可能参与核膜重塑。构建了 PGEX-4T-1-Nesprin2 C85 重组质粒,经 IPTG 诱导后成功表达了 GST-Nesprin2 C85 融合蛋白。对 GST-Nesprin2 C85 融合蛋白进行纯化后,Western blot 进行检测,结果发现,原核诱导表达的融合蛋白为 GST-Nesprin2 C85 融合蛋白。**结论:**Nesprin2 在小鼠各级生精细胞中均有表达,在减数分裂过程中可能参与核膜的重塑。

**关键词:** Nesprin2; 免疫荧光; 减数分裂; 原核表达; 精子发生

**中图分类号:** Q95-3; R394.8; Q492 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2015)16-3001-05

## The Expression of Nesprin2 in Different Stages of Germ Cells in Mouse Testis and Its Prokaryotic Expression and Purification\*

ZENG Jiao-hui<sup>1,2</sup>, WU Yong<sup>1</sup>, JIANG Jin-quan<sup>2</sup>, WANG Jing-fang<sup>3</sup>, XING Xiao-wei<sup>2Δ</sup>

(1 Department of Clinical Laboratory, the third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, Hunan, 410013, China;

2 The Center for Experimental Medicine Research, the third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, Hunan, 410013, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the expression of Nesprin2 in different stages of mouse germ cells, and to obtain Nesprin2 fusion protein by prokaryotic expression and purification to further study its role in spermatogenesis. **Methods:** Mouse germ cell slides were prepared. Nesprin2 was detected in different stages of mouse germ cells with specific anti-Nesprin2 antibody by immunofluorescence staining. The target fragment in Nesprin2 C-end encoding 85 amino acids, which included a KASH domain, was amplified by RT-PCR. The PCR products were cloned into pUCm-T vector and sequenced, the verified target fragment was subcloned into pGEX-4T-1 vector, a prokaryotic expression vector with GST tag. The recombinant plasmid was then transformed into *E.coli* BL21. After induced by IPTG, the GST-Nesprin2-C85 fusion protein was purified by GST purification kit and identified by western blotting. **Results:** Immunofluorescence staining showed that Nesprin2 can be detected in all stages of mouse germ cells and was located in nuclear membrane and periphery. Nesprin2 may be involved in the remodeling of nuclear membrane in meiosis. The recombinant plasmid GST-Nesprin2-C85 was constructed and the fusion protein was expressed successfully after induced by IPTG. After purification, the protein was identified to be the GST-Nesprin2-C85 fusion protein as we expected by Western blotting. **Conclusions:** Nesprin2 is expressed in all stages of mouse germ cells, and it may participate in the remodeling of nuclear membrane. The constructed prokaryotic expression plasmid and the identified GST-Nesprin2-C85 fusion protein will lay a foundation for future research for finding its interaction protein by pull-down technique and interpreting its biological function in spermatogenesis.

**Key words:** Nesprin2; Immunofluorescence; Meiosis; Prokaryotic expression; Spermatogenesis

**Chinese Library Classification(CLC):** Q95-3; R394.8; Q492 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2015)16-3001-05

### 前言

细胞骨架是近年来细胞生物学研究领域的一个热点。Ne-

sprin 是一类新发现的细胞骨架蛋白,包括 Nesprin-1、Nesprin-2、Nesprin-3、Nesprin-4。其中 Nesprin-2 是目前 Nesprin 家族中研究和报道较多的一个蛋白。Nesprin2 (又称 SYNE2,

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(81170615)

作者简介:曾娇辉(1985-),女,硕士研究生,主要从事生殖相关基因的研究,电话:13467932102, E-mail: zengjiaohui@163.com

Δ 通讯作者:邢晓为,男,副研究员,博士生导师,电话:0731-88618311, E-mail: davy2222@163.com

(收稿日期:2014-12-01 接受日期:2014-12-20)

NUANCE),位于人类染色体 14q23<sup>[1]</sup>,全长 6885 个氨基酸,分子量为 796kDa,N 端为肌动蛋白结合区(actin binding domain, ABD),中间由 56 个膜收缩蛋白重复序列(spectrin repeat, SR)组成长度可变的棒状区,C 端跨膜区包含一个由 60 个氨基酸组成的保守的 KASH 区<sup>[2]</sup>。由于 N 端的变异,Nesprin2 可以产生一系列大小不同的蛋白亚型,包括 Nesprin2-Giant(796kDa)、Nesprin2- $\alpha$  (61 KD)、Nesprin2- $\beta$  (87 KD)、Nesprin2- $\gamma$  (377 KD),以及最新发现的 Nesprin2- $\epsilon$  1 和  $\epsilon$  2(122 KD 和 103 KD)<sup>[3]</sup>。Nesprin2 在组织中分布广泛,其中肝脏、肾脏中表达量较高<sup>[3,4]</sup>。不同的组织和细胞内亚型的表达及定位不同,大部分亚型可分布在核膜上,部分亚型分布于内质网、微管、高尔基体等不同细胞器<sup>[5,6]</sup>。

最新研究发现,Nesprin2 在睾丸中高表达,主要亚型为 Nesprin2-Giant 和 Nesprin2- $\epsilon$  <sup>[3]</sup>。然而,Nesprin2 在精子发生过程中发挥什么作用目前尚不清楚。本研究拟对 Nesprin2 在小鼠各级生精细胞中的定位进行研究,观察其在生精细胞中的表达变化,试图从形态学角度揭示其在精子发生中的作用。此外,我们对 Nesprin2 C 端包含 KASH domain 的 85 个氨基酸序列进行原核表达和纯化,为进一步研究在精子发育中的分子机制奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

C57BL/6 小鼠购自本校实验中心;RNA 抽提试剂盒购自 Genra 公司;cDNA 第一链合成试剂盒、EcoRI 和 XhoI 限制性内切酶购自 Fermentas 公司;pUCm-T 载体、pGEX-4T-1 表达载体、引物、PCR 试剂盒、GST 纯化试剂盒购自上海生工有限公司;Easy-A 高保真 PCR 扩增酶购自 Agilent 公司;质粒抽提试剂盒、胶回收试剂盒、连接试剂盒购自 TaKaRa 公司;Nesprin2 抗体购自 Abcam 公司;GST 抗体、CY3(三氢-吡啶菁类染料)标记的羊抗鼠 IgG 购自碧云天公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 Nesprin2 蛋白在小鼠睾丸各级生精细胞中的定位** 采用本课题组已建立的方法制作 C57BL/6 小鼠睾丸细胞涂片<sup>[7]</sup>,PBS 漂洗 3 次,用 0.3% Triton X-100 处理 10 min,PBS 漂洗 2 次,每次 5 min;5% 小牛血清封闭 2 h;滴加 1:200 稀释度的特异性一抗 Nesprin2,4℃ 过夜,PBS 漂洗 3 次,每次 5 min;滴加 1:200 稀释度的羊抗小鼠 CY3-IgG 二抗,室温避光孵育 1 h,PBS 漂洗 4 次,每次 5 min;DAPI(1:2000)复染细胞核 3 min,PBS 漂洗 4 次,每次 5 min,最后甘油封片,荧光显微镜下观察 Nesprin2 在各级生精细胞中的表达及定位。

**1.2.2 巢式 PCR 扩增目的基因** (1)按照 Genra 试剂盒提供的方法进行小鼠睾丸组织总 RNA 的提取。(2)逆转录合成 cDNA。(3)在 PE9700 型 PCR 仪上进行巢式 PCR 特异性扩增 Nesprin2 C85 基因片段:第一轮 PCR 扩增,正向引物为:F1:5'-CAGCTCCTTGCGGGAGATT-3',反向引物为:R1:5'-TTAGGTGGGAGGTGGCCCGTTG-3';第二轮扩增,正向引物为:F2:5'-CCGGAATTCGAAGAGGAAGAGGAGGAGGAGGA-3',反向引物:R2:5'-CCGCTCGAGTTAGGTGGGAGGTGGCCCGTTG-3'。

**1.2.3 构建 pUCm-T-Nesprin2 质粒** 将第二轮高保真 PCR 产物连接到 pUCm-T 载体中,转化感受态细胞 DH5 $\alpha$ ,在含氨苄青霉素的固体 LB 平板培养基上 37℃ 培养过夜,挑选单个克隆,加入 450  $\mu$ L 含氨苄青霉素的液体 LB 培养基扩增菌液,然后直接以菌液为模板,对阳性克隆进行 PCR 鉴定,条件同第二轮巢式 PCR。将筛选到的阳性克隆送检测序。

**1.2.4 构建 pGEX-4T-1-Nesprin2 重组质粒** 将重组质粒 pUCm-T-Nesprin2 和表达载体 pGEX-4T-1 分别用 EcoRI 和 XhoI 双酶切,回收载体和目的基因片段,连接过夜后转化大肠杆菌 BL21,挑取阳性克隆测序验证。

**1.2.5 诱导 GST-Nesprin2 融合蛋白表达** (1)将验证后的 GST-Nesprin2 重组质粒转化大肠杆菌 BL21,37℃ 培养过夜。挑取单个菌落,接种于 5 mL 含有氨苄青霉素的 LB 液体培养基中,37℃,220 rpm 摇菌至菌液浑浊。取 50  $\mu$ L 菌液和 3 mL 的含有氨苄青霉素的 LB 液体培养基,继续培养 1.5~2 h,OD 值达 0.6 左右。(2)在摇好的菌液中加入 3  $\mu$ L 20% 的 IPTG 溶液开始诱导,选择不同诱导温度 25℃、30℃、34℃、35℃、37℃ 以摸索最适温度。于诱导后 3~5 h 取样,诱导前菌液作为阴性对照。(3)取 1 mL 菌液,12 000 r/min 离心 1 min 收集菌体,400  $\mu$ L PBS 重悬,取 60  $\mu$ L 加入 15  $\mu$ L 5 $\times$  蛋白上样缓冲液,煮沸 5 min,10,000 rpm 离心 1 min 后取 20  $\mu$ L 上清进行 SDS-PAGE 电泳。(4)考马斯亮蓝染色检测诱导蛋白的表达情况。

**1.2.6 GST-Nesprin2 融合蛋白的纯化** 挑取单个阳性克隆,加入 10 mL 含氨苄青霉素的 LB 液体培养基中,37℃,220 rpm,振荡过夜培养 15 h 后全部加入到 1000 mL 含有氨苄青霉素的 LB 液体培养基中,37℃ 振荡培养至 OD600 达到 0.8~1.0,加入 20% 的 IPTG 于 25℃ 诱导 8 h,4℃,8000 rpm,离心 10 min,去上清,沉淀置于冰上。用预冷的 200 mL PBS 重悬沉淀,加入 PMSF 至终浓度为 1 mM。将重悬的沉淀置于冰上超声破碎,200 W,30 s 超声,30 s 间隔,30 次循环,反复 3 次。4℃,12,000 rpm 离心 15 min,取上清使用 GST 亲和柱纯化,纯化过程按试剂盒操作说明进行。洗脱下来的 GST-Nesprin2 蛋白液,在 50 mM Tris-HCl,200 mM NaCl 缓冲液 (pH 为 8.0) 中过夜透析,-20℃ 保存备用。

**1.2.7 Western blot 鉴定 GST-Nesprin2 融合蛋白的表达** 将纯化的 GST-Nesprin2 C85 融合蛋白和 GST 蛋白同时进行 SDS-PAGE 电泳并转膜,以 1:2000 的 GST 标签抗体为一抗,1:10000 的 HRP 标记的羊抗鼠 IgG 为二抗,进行 Western blot 检测,观察 GST-Nesprin2 C85 融合蛋白的表达。

## 2 结果

### 2.1 免疫荧光染色观察 Nesprin2 在各级生精细胞中的表达

为了观察 Nesprin2 在各级生精细胞中的表达,我们按照本课题组创建的方法制备了小鼠睾丸细胞涂片,用 Nesprin2 特异性抗体对 Nesprin2 蛋白进行免疫荧光检测。结果发现,在荧光显微镜下可以观察到 Nesprin2 在各级生精细胞中均有表达。在精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞,再到圆形精子细胞,Nesprin2 主要分布在核膜及其周围。在变态成形的精子细胞中,随着细胞核的变态、延伸,Nesprin2 呈不均一分布,虽然围

绕胞核,但在核的一侧分布较少,而在另一侧分布较多,我们推测 Nesprin2 有可能参与精子顶体的形成(图 1)。

在第一次减数分裂过程中,我们观察到在未分裂的精母细胞中, Nesprin2 分布在核膜及核周。在精母细胞分裂后期,随着两个子核的分离, Nesprin2 从两侧向中间延伸,将两个子核隔断,到了末期,随着核的迁移, Nesprin2 重新分布到了核膜及核周。同样,在第二次减数分裂中后期,随着次级精母细胞开始分裂,两个子细胞核逐渐向细胞两极移动, Nesprin2 蛋白在胞核及其周围明显增多,随着胞核的分离, Nesprin2 在两个核中间形成一道屏障,将两个核隔离开;随着核的运动, Nesprin2 又重新将新形成的两个精子细胞的胞核包被,分布于细胞核膜及核周。通过对减数分裂过程的观察,推测 Nesprin2 可能在减数分裂过程中参与核膜重塑(图 2)。

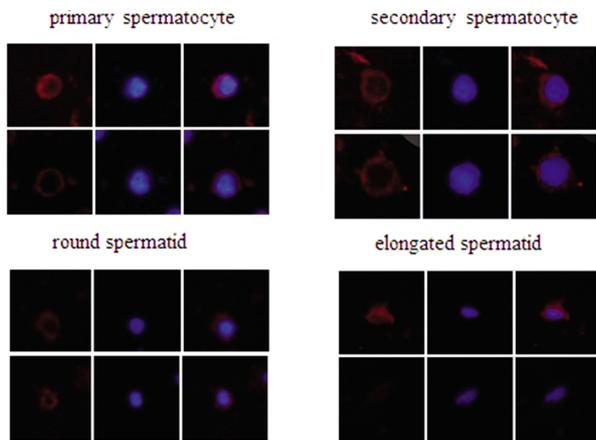


图 1 细胞免疫荧光染色检测 Nesprin-2 在各级生精细胞中的表达  
Fig. 1 Nesprin2 was detected in different stages of mouse germ cells by the immunofluorescence assay

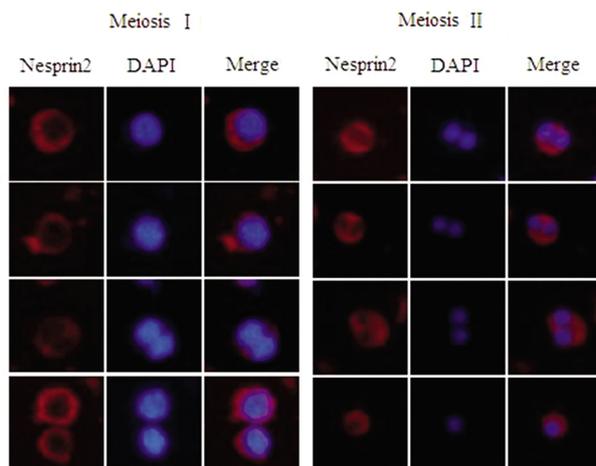


图 2 细胞免疫荧光染色检测 Nesprin-2 在减数分裂过程中的表达  
Fig. 2 The expression of Nesprin2 was detected in meiosis stages of germ cells by immunofluorescence staining

## 2.2 巢式 PCR 扩增 Nesprin2 C85 结果

Nesprin2 可以通过 KASH domain 和核膜上的蛋白相互作用,为了进一步研究 Nesprin2 在生精细胞核膜上的锚定机制,本研究拟对 Nesprin2 C 末端包含 KASH domain 的区域进行原核表达。我们用巢式 PCR 对 Nesprin2 C85 基因片段进行扩增,

第一轮 PCR 扩增产物经电泳分析,其大小在 473 bp,与预期结果一致。随后,我们将第一轮 PCR 扩增产物稀释,作为模板进行第二轮 PCR 扩增,电泳检测结果发现,在 258 bp 处有特异性扩增产物,其片段大小与预期一致(图 3)。

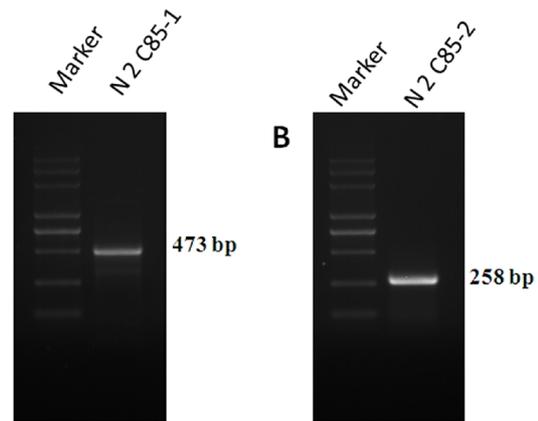


图 3 巢式 PCR 扩增 Nesprin2 C85 电泳检测结果(N2C85-1 为第一轮 PCR 产物;N2C85-2 为第二轮 PCR 产物)  
Fig. 3 Nesprin2 C85 were amplified by nested PCR(The PCR products of the first and the second round amplification were marked with N2C85-1 and N2C85-2, respectively)

## 2.3 pGEX-4T-1-Nesprin2 C85 重组质粒的构建

将巢式 PCR 扩增的 Nesprin2 C85 片段插入到 pUCm-T 载体中,形成重组质粒。测序验证后,对 pUCm-T- Nesprin2 C85 重组质粒进行双酶切,将切下的目的片段纯化回收后亚克隆至表达载体 pGEX-4T-1 中。用 PCR 技术对所挑选的阳性克隆进行鉴定,结果发现所挑选的 1-9 号克隆中,1-8 号克隆为阳性(图 4A)。对 No 1 阳性克隆进行测序,结果发现所插入的目的片段完全正确,载体与基因连接的位置没有移码和突变(图 4B)。

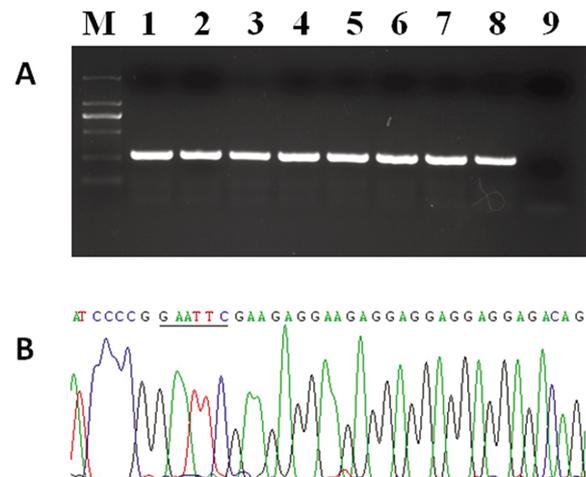


图 4 pGEX-4T-1-Nesprin2 C85 重组质粒的鉴定(A:电泳检测 pGEX-4T-1-Nesprin2 C85 1-8 号阳性克隆 PCR 扩增产物,9 号为阴性对照;B:pGEX-4T-1-Nesprin2 C85 1 号阳性克隆测序结果)  
Fig. 4 The identification of the recombinant plasmid pGEX-4T-1-Nesprin2 C85(A.The electro- phoresis results after PCR amplification of 1-8 pGEX-4T-1-Nesprin2 C85 positive clones, 9 is the negative control; B:the sequencing results of NO 1 pGEX-4T-1-Nesprin2 C85 positive clone)

### 2.4 诱导前后 GST-Nesprin2 融合蛋白表达的检测

将 pGEX-4T-1-Nesprin2 C85 转化大肠杆菌,用 IPTG 进行诱导,3 h 后取样检测,结果发现,诱导组在 30~40 KD 之间有一条诱导条带,其蛋白大小比预期的蛋白大小基本相符,而在未诱导组未见该蛋白表达。

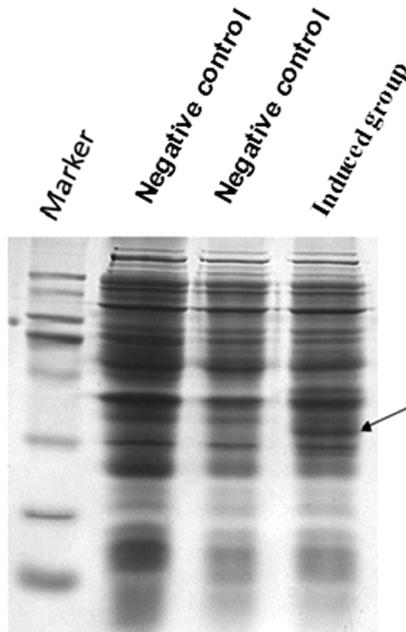


图 5 SDS-PAGE 检测 GST-Nesprin2 C85 融合蛋白

Fig. 5 SDS-PAGE analysis of the expression of GST-Nesprin2 C85 fusion protein

### 2.5 GST-Nesprin2C85 的纯化及鉴定

用 GST 纯化试剂盒将诱导的融合蛋白进行纯化, SDS-PAGE 电泳检测结果发现,纯化后的融合蛋白杂蛋白含量明显减少(图 6A)。用 GST 特异性抗体对 GST 和纯化后的 GST-Nesprin2 融合蛋白进行 Western blot 检测,结果发现, GST 和 GST-Nesprin2 在相应的位置均有特异性条带,该结果表明,我们所纯化的蛋白为 GST-Nesprin2 C85 融合蛋白(图 6B)。

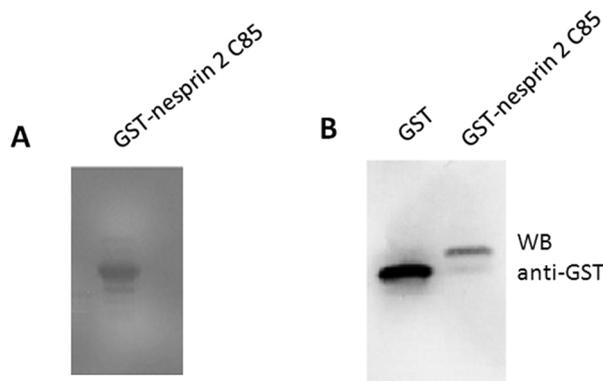


图 6 GST-Nesprin2 C85 的纯化及鉴定 (A: 纯化的 GST-Nesprin2 C85 融合蛋白; B: Western blotting 检测 GST-Nesprin2 C85)

Fig. 6 Purification and identification of GST-Nesprin2 C85 fusion protein (A.Purified GST-Nesprin2 C85; B.Detection of GST-Nesprin2 C85 by Western blotting)

## 3 讨论

Nesprin2 是一个广泛分布的基因,其 N 端与 F-actin、网格蛋白等相结合,C 端通过 KASH domain 与 SUN 家族中的 SUN1、SUN2 相互作用,形成 LINC(linker of nucleoskeleton and cytoskeleton)复合体,在核骨架和胞浆骨架之间搭起了一座桥梁,有机的将核骨架与胞浆骨架联系起来<sup>[8,9]</sup>。而 Nesprin2 在核膜上的定位依赖于 SUN1 和 SUN2,其中 SUN1 对于 Nesprin2 定位于核膜是必需的<sup>[10]</sup>。LINC 复合体在维持细胞的极性以及核的正确定位、迁移、分裂等细胞活动中发挥着重要的作用<sup>[11-13]</sup>。在敲除 Nesprin2 肌动蛋白结合域(即 Nesprin2 $\Delta$ ABD KO)的小鼠中,角质细胞胞核增大,表皮明显增厚<sup>[5]</sup>。此外,Nesprin2 的杂合错义突变导致埃德二氏肌营养不良(EDMD, Emery Dreifuss Muscular Dystrophy)病的发生,EDMD 病人的成纤维细胞表现出核形态缺陷、核膜蛋白 Emerin 和 SUN2 定位错误、核染色质重组、核膜不完整。siRNA 介导的 Nesprin-2 的基因沉默实验研究发现,在正常的成纤维细胞中,Nesprin2 基因沉默也会导致核畸形,Emerin 和 SUN2 的定位出现错误<sup>[14]</sup>。Zhang X<sup>[15]</sup>等研究发现 Nesprin2 在小鼠大脑神经元的发生和迁移过程中可与 Dynein/Lis1 和 Kinesin-1 相互作用连接到中心体,同时与 SUN1、SUN2 形成复合体介导中心体与核膜的连接,从而参与核迁移过程。Nesprin2 在睾丸中高表达,其功能目前尚不清楚,为了解 Nesprin2 在精子发生过程中的作用机制,我们通过免疫荧光技术检测了 Nesprin2 在小鼠睾丸各级生精细胞中的表达及定位,结果发现 Nesprin2 在各级生精细胞中均有表达,尤其是在减数分裂过程中,Nesprin2 发挥着重要的功能。

Nesprin2 亚型的分布具有高度组织特异性,如在 EDMD 的模型中,Nesprin2- $\alpha$  表达增高。在睾丸中 Nesprin2-Giant 和 Nesprin2- $\epsilon$  大量表达,而其他亚型分布较少。Nesprin2-Giant 是在绝大部分组织和细胞中表达的 Nesprin2 主要亚型<sup>[9]</sup>,而 Nesprin2- $\epsilon$  1 主要在早期胚胎细胞中表达,Nesprin2- $\epsilon$  2 在心脏、大脑、睾丸组织中均大量表达,其作用机制尚不清楚<sup>[16]</sup>。目前尚没有针对 Nesprin2 不同剪切体的特异性抗体,本研究所用的抗体可以同时检测到 Nesprin2 大多数的亚型。我们对减数分裂的过程研究发现,在精母细胞中 Nesprin2 分布于核膜和核周,随着减数分裂的进程,在第一次和第二次减数分裂的后期和末期,Nesprin2 蛋白在子细胞核还未完全分开的时候就已经开始在两个子核之间形成屏障,直接参与核膜的重塑过程。然而,该过程是 Nesprin2-Giant 还是 Nesprin2- $\epsilon$  以及其他的剪切体发挥的作用,还有待于进一步研究。

为进一步研究其在小鼠睾丸中的作用,我们对 Nesprin2 基因 C 端 KASH domain 的 85 个氨基酸进行了原核表达与纯化,构建了 GST-Nesprin2 C85 重组质粒,转化大肠杆菌,同时利用 IPTG 对融合蛋白进行诱导表达。在诱导过程中,我们探索了 25 $^{\circ}$ C、30 $^{\circ}$ C、34 $^{\circ}$ C、35 $^{\circ}$ C、37 $^{\circ}$ C 这几个不同的温度对表达的影响,发现 25 $^{\circ}$ C 诱导下,该融合蛋白的表达量最高。接下来我们通过 GST 亲和层析法对其进行了纯化,成功获得了纯度较高的 GST-Nesprin2 重组蛋白,这为我们进一步开展 Pull down 实验提供了实验材料,为研究 Nesprin2 在精子发生中的分子机制

奠定了基础。

#### 参考文献(References)

- [1] Zhang Q, Jeremy N. Skepper, Fangtang Yang, et al. A novel family of spectrin-repeat-containing proteins that localize to the nuclear membrane in multiple tissues [J]. Journal of Cell Science, 2001, 114 (Pt 24): 4485-4498
- [2] Dawe HR, Adams M, Wheway G, et al. Nesprin-2 interacts with meckelin and mediates ciliogenesis via remodelling of the actin cytoskeleton[J]. Journal of Cell Science, 2009, 122(Pt 15): 2716-2726
- [3] Duong NT, Morris GE, Lam le T, et al. Nesprins:Tissue-Specific Expression of Epsilon and Other Short Isoforms[J]. PLoS One, 2014, 9(4): e94380
- [4] Rashmi RN, Eckes B, Glöckner G, et al. The nuclear envelope protein Nesprin2 has roles in cell proliferation and differentiation during wound healing[J]. Nucleus, 2012, 3(2): 172-186
- [5] Lü ke Y, Zaim H, Karakesisoglou I, et al. Nesprin-2 Giant (NUANCE) maintains nuclear envelope architecture and composition in skin[J]. Journal of Cell Science, 2008, 121(Pt 11): 1887-1898
- [6] Libotte T, Zaim H, Abraham S, et al. Lamin A/C-dependent localization of Nesprin-2, a giant scaffold at the nuclear envelope [J]. Mol Biol Cell, 2005, 16(7): 3411-3424
- [7] 杨梦, 左笑丛, 邢晓为, 等. 一种小鼠睾丸细胞涂片的快速制备方法 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2014, 30(2): 202-205  
Yang Meng, Zuo Xiao-cong, Xing Xiao-wei, et al. A fast method for preparing the mouse germ cell slides [J]. Chin J Cell Mol Immunol, 2014, 30(2): 202-205
- [8] Dipen Rajgor, Jason A. Mellad, Flavia Autore, et al. Multiple novel Nesprin-1 and Nesprin-2 variants act as versatile tissue-specific intracellular scaffolds[J]. PLoS ONE, 2012, 7(7): e40098
- [9] Lei K, Zhang X, Ding X, et al. SUN1 and SUN2 play critical but partially redundant roles in anchoring nuclei in skeletal muscle cells in mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(25): 10207-10212
- [10] Padmakumar VC, Libotte T, Lu W, et al. The inner nuclear membrane protein Sun1 mediates the anchorage of Nesprin-2 to the nuclear envelope [J]. Journal of Cell Science, 2005, 118 (Pt 15): 3419-3430
- [11] Rajgor D, Shanahan CM. Nesprins: from the nuclear envelope and beyond[J]. Expert Rev Mol Med, 2013, 15: e5
- [12] Razafsky D, Blecher N, Markov A, et al. LINC complexes mediate the positioning of cone photo- receptor nuclei in mouse retina [J]. PLoS ONE, 2012, 7(10): e47180
- [13] Erin C Tapley, Daniel A Starr. Connecting the nucleus to the cytoskeleton by SUN KASH bridges across the nuclear envelope[J]. Current Opinion in Cell Biology, 2013, 25(1): 57-62
- [14] Zhang Q, Cornelia Bethmann, Nathalie F Worth, et al. Nesprin-1 and -2 are involved in the pathogenesis of Emery Dreifuss muscular dystrophy and are critical for nuclear envelope integrity [J]. Human Molecular Genetics, 2007, 16(23): 2816-2833
- [15] Zhang X, Lei K, Yuan X, et al. SUN1/2 and Syne/Nesprin-1/2 complexes connect centrosome to the nucleus during neurogenesis and neuronal migration in mice[J]. Neuron, 2009, 64(2): 173-187
- [16] Zhang Q, Ragnauth CD, Skepper JN, et al. Nesprin-2 is a multi-isomeric protein that binds lamin and emerin at the nuclear envelope and forms a subcellular network in skeletal muscle[J]. J Cell Sci, 2005, 118(Pt 4): 673-687

## ·重要信息·

### 热烈祝贺本刊主编申宝忠教授荣获国家科技进步二等奖

2015年1月9日,“2014年国家科技奖励大会”在北京人民大会堂举行,国家主席习近平、国务院总理李克强等领导人出席会议并为获奖代表颁奖。本刊主编、哈尔滨医科大学附属第四医院院长、国家“973计划”项目首席科学家--申宝忠教授主持并领导“多功能分子成像肿瘤诊疗关键技术及应用”项目荣获国家科学技术进步奖二等奖,该奖项是我国科技进步奖类唯一的一项分子影像学研究领域成果。

肿瘤分子水平诊疗是未来医学的发展方向和新模式,而在体分子靶点的特异性识别及靶向干预是实现肿瘤分子水平诊疗的技术关键。申宝忠教授科研团队在国家及省部委课题基金的大力支持下,围绕肿瘤分子水平诊疗的关键问题展开多功能、系统性的分子成像技术及其应用研究,首次提出了“肿瘤系统分子成像”的新理念,创建了一系列肿瘤诊疗多功能分子成像新技术新方法,并研发了一系列肿瘤分子诊疗新产品,实现了癌症初始阶段的早期分子水平诊断以及靶向治疗,有力推动了肿瘤诊断及治疗技术进步与发展,对于提高恶性肿瘤的早期诊断率、降低死亡率具有重大意义,产生了巨大的社会效益。该研究成果填补了多项技术国际空白,显著提升了我国分子影像研究水平和国际影响力。