

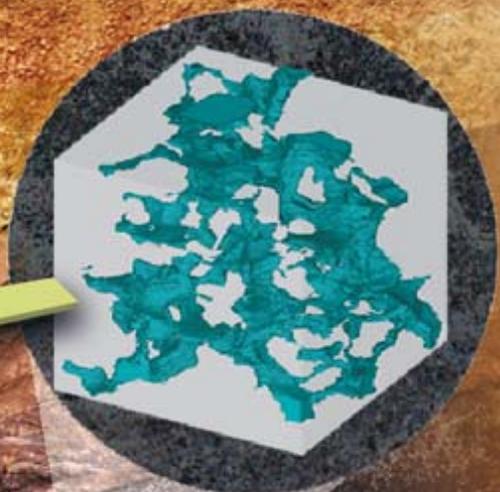
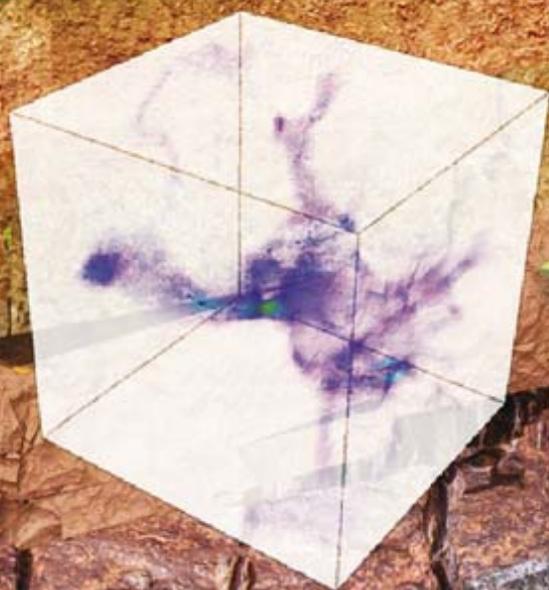
ISSN 0023-074X

CN 11-1784/N

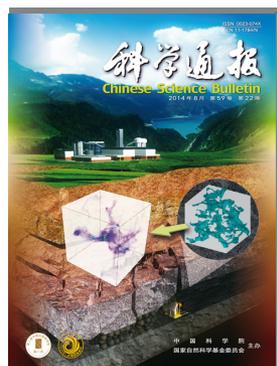
科学通报

Chinese Science Bulletin

2014年8月 第59卷 第22期



中国科学院 主办
国家自然科学基金委员会



2014年8月,第59卷,第22期

封面说明: 深部煤炭开采、油气资源开发、二氧化碳地质封存及地下水环境保护等重要工程问题与地下岩体介质中流体的渗流性质密切相关。岩体介质原始存在着大量形态复杂、跨尺度、无序分布的孔隙,由于深埋于地下,开采引发的岩体介质孔隙结构变形、演化、流体渗流等内在物理力学过程“看不见、摸不着”,现场探测的难度大、风险高、经济性差,这些问题成为定量表征对岩体介质渗流起控制作用的内部机制,以及准确把握岩体介质渗流性质变化与其内在结构之间联系的瓶颈难题。鞠杨课题组发展了一种基于岩体介质内部结构CT图像与三维重构模型的 CH_4 微观渗流的Lattice Boltzmann模拟方法,结合有限元数值方法定量解析了三轴应力作用下介质孔隙结构变形对 CH_4 渗流的影响机制。封面图片形象地描绘了地下岩体开采变形、介质孔隙结构模型与渗流模型。该研究尝试为分析地下岩体开采变形对流体渗流性质的影响、评价储层气体渗流能力提供定量方法与可视化手段。详见鞠杨等人文(p2127)。

《科学通报》编辑部

地址:北京市东城区东黄城根北街16号 《中国科学》杂志社

邮编:100717

网址:www.scichina.com csb.scichina.com

E-mail: csb@scichina.org

主任	安瑞	010-64036120	anrui@scichina.org	(兼生命科学编辑)
副主任	张莉	010-64012686	zhangli@scichina.org	(兼地球科学编辑)
责任编辑	邹文娟	010-64036120	zouwenjuan@scichina.org	(物理学 天文学 信息科学)
	王晶	010-62567305	wangj@scichina.org	(物理学 力学 工程科学)
	智欣	010-62567305	zhixin@scichina.org	(化学)
	王元火	010-64015905	wyh@scichina.org	(生命科学)
	孙红梅	010-64036120	shm@scichina.org	(生命科学)
	肖鸣	010-62567305	xiaoming@scichina.org	(材料科学)

本期责任编辑 王晶

生产编辑 程剑侠

封面设计 胡煜

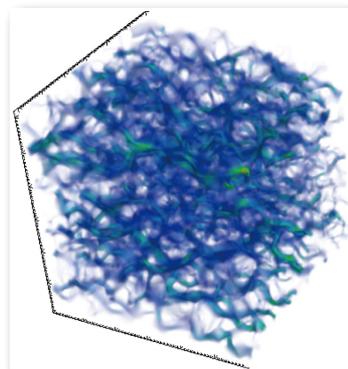
自然科学基金项目进展专栏

论文/能源科学

2127 变形条件下孔隙岩石CH₄微观渗流的Lattice Boltzmann模拟

鞠杨,王金波,高峰,谢和平

基于孔隙岩石的三维数字模型,运用格子Boltzmann及有限元法分析了岩石CH₄微观渗流特征及应力作用下孔隙结构变形对CH₄渗流的影响,为定量表征地下岩体开采变形对流体渗流的影响提供了一种新方法.



▲ 鞠杨等 p2127

特邀进展

化学生物学

2137 聚3-羟基丙酸及其共聚物的生物合成

杨鹏,王琦,咸漠,薛永常,赵广

聚3-羟基丙酸是一种新型的可生物降解塑料,具有良好的材料性能、生物降解性和生物相容性.本文介绍了近年来在其生物合成,尤其是利用葡萄糖、甘油等廉价碳源进行生物合成方面的研究进展.

进展

生物工程

2145 纳米银细胞毒性体外检测方法研究进展

朱玲英,郭大伟,顾宁

纳米银材料以其独特的理化性质被广泛应用于生物医学领域.本文围绕纳米银细胞毒性,介绍了其体外检测方法的研究进展,总结了纳米银细胞毒性的可能机制,并对其未来发展做出了展望.



▲ 潘熙锋等 p2191

2153 功能生物界面的“微纳尺度构建-功能-力学耦合”机制

孙全梅,敖卓,冯建涛,李宏义,韩东

总结了不同生物界面上的微纳尺度结构对于界面特定功能意义的最新研究进展,提出了“微纳尺度构建-功能-力学耦合”的机制.

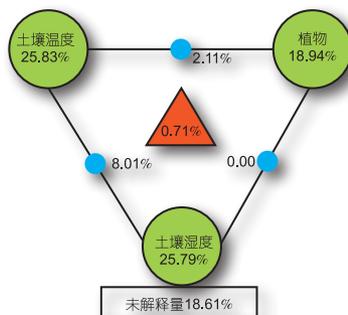
评述

生物物理

2160 分子动力学模拟研究穿透肽的跨膜机制及引导新肽设计

曹赞霞,刘磊,王吉华

分子动力学模拟是研究细胞穿透肽跨膜分子机制的重要工具,与实验研究相互促进,对特异性靶向穿透肽的设计具有重要的指导作用.



▲ 张于光等 p2197

神经科学

2169 肠道菌群影响宿主行为的研究进展

罗佳,金锋

肠道菌群的调控作用不局限于胃肠道,通过肠-脑轴能够对宿主的应激反应、焦虑、抑郁和认知功能产生重要影响.主要的证据来自于相关动物研究以及肠道菌群失调导致的肠-脑疾病和中枢神经系统疾病.

论文

材料科学

2191 高场磁体用套管法Nb₃Al超导线材制备及性能

潘熙锋, 闫果, 陈传, 齐铭, 崔利军, 陈永亮, 赵勇, 白质明, 李成山, 刘向宏, 冯勇, 张平祥

采用套管法制备了Nb₃Al先驱体长线, 并利用自主设计制作的高温急热急冷装置对导线进行了热处理, 获得了高性能Nb₃Al超导线材. Nb₃Al超导材料在高场磁体应用上有望替代传统Nb₃Sn超导线材.

生态学

2197 高黎贡山天然阔叶林的土壤微生物功能基因多样性

张于光, 周慧, 丛静, 李迪强

应用微生物功能基因芯片, 分析了云南高黎贡山阔叶林土壤微生物的功能基因多样性及其主要环境影响因子.

2205 人类母乳微生物菌群的生态学分析

关琼, 马占山

母乳微生物菌群是人类与微生物协同进化相互适应的产物, 而“微生物群落-宿主”生态系统的动态平衡则是保持健康母乳的基础. 本文从生态学角度, 应用宏观生态学中的“中性”理论和Taylor幂法则探讨了母乳菌群群落多样性进化以及细菌种群之间相互作用的机制.

地质学

2213 东准噶尔滴水泉地区发现洋中脊型蛇绿岩

胡朝斌, 廖群安, 樊光明, 陈帅, 吴魏伟, 田健, 王富明

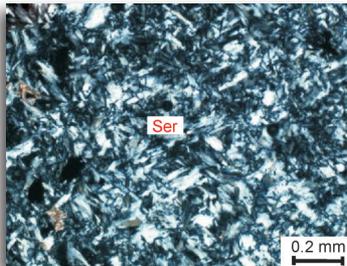
在东准噶尔滴水泉地区新发现了一套蛇绿岩, 研究认为其形成于早泥盆世早期的洋中脊环境, 代表了哈萨克斯坦-准噶尔古板块和西伯利亚板块之间的古洋盆岩石圈残片.

工程热物理

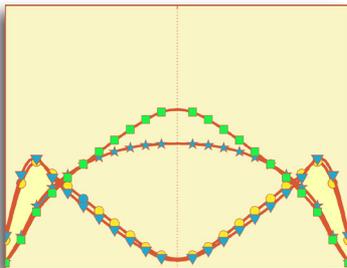
2223 各向异性发射球体小目标热红外特性研究

黄勇, 崔雪

采用蒙特卡洛法建立小目标红外探测的随机概率模型. 在保持目标表面平均半球发射率不变时, 调整发射率的角度分配性, 可以改变目标红外能量信号在探测阵列上的分布情况.



▲ 胡朝斌等 p2213



▲ 黄勇等 p2223

纳米银细胞毒性体外检测方法研究进展

朱玲英^{①②}, 郭大伟^{①②}, 顾宁^{①②*}

① 东南大学生物科学与医学工程学院, 生物电子学国家重点实验室, 江苏省生物材料与器件重点实验室, 南京 210096;

② 东南大学苏州研究院苏州生物医用材料与技术重点实验室, 苏州 215123

* 联系人, E-mail: guning@seu.edu.cn

2014-03-25 收稿, 2014-04-28 接受, 2014-06-16 网络版发表

国家重大科学研究计划(2011CB933503)资助

摘要 纳米银因具有良好的光学、导电和抗菌等性能被广泛应用于生物、医学相关的许多领域。利用纳米银所产生的细胞毒性有望改善某些疾病的治疗, 但银纳米材料的广泛使用也引发了人们对其生物安全性的高度关注。如何更有效、更低毒地使用银纳米材料, 需要对其细胞毒性进行更全面的检测。近年来已有大量文献对如何进行纳米银细胞毒性的体外检测进行了研究, 本文综述了该领域内的重要进展, 有望为进一步开展银纳米材料的体内实验乃至临床实验提供重要参考。

关键词

纳米银
细胞毒性
体外检测
毒性机制

纳米银以其良好的抗菌性能, 被广泛应用于医疗器械等领域, 从而与皮肤或血液相接触, 进入体内并蓄积^[1]。因此, 纳米银的生物安全性越来越受到人们的关注, 其进入生命体和环境以后可能带来的生物安全性问题需要定量评价。目前纳米材料生物毒性的评价方法, 大致可分为体内和体外两种。体外评价作为一种重要的毒性检测手段, 具有诸多优点^[2]: 检测方法快速简便, 产生较少的毒性物质, 以人体组织或细胞作为实验对象, 减少了动物的使用, 易获得时间依赖性的结果, 减少了实验组间的差异等。尽管目前的体外检测方法繁多, 但尚无证据表明现有的某个方法能单独作为检测所有纳米材料体外毒性的通用方法, 也无证据表明综合这些方法就能全面评估纳米材料的生物安全性, 因此有必要建立一个准确的毒性检测方法, 进行重复性毒性实验, 改进操作方法, 对生物学产物标准化, 去除实验环境的影响。

纳米银与细胞相互作用的研究方兴未艾。细胞活力检测是纳米银细胞毒性评价的重要方法之一。而细胞活力检测又包括了细胞增殖、凋亡、坏死等方面。纳米银体外毒性的研究对于进一步开展纳米银体内的研究具有重要的指导意义, 鉴于此, 本文就纳

米银细胞毒性产生的可能机制及各种体外检测方法进行归纳与分析, 以期对纳米银生物安全性评价的标准化以及进一步的动物实验及临床实验研究等方面提供一定的参考。

1 纳米银诱导细胞毒性的可能机制

大量研究表明, 纳米银诱导的细胞毒性受其纳米材料尺寸、表面化学、及电荷等理化特性的影响, 然而其确切机制尚无定论。如图 1 所示^[3], 纳米银细胞毒性的机制可能有如下几种方式: (i) 纳米银在胞内释放银离子。离子同呼吸链中的酶如烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide)脱氢酶相互作用, 使呼吸链解偶联, 抑制三磷酸腺苷(adenosine-triphosphate, ATP)的合成。银离子与核酸结合也会干扰呼吸链功能^[4], 或与传递蛋白结合, 使质子发生泄漏, 质子泵运作失常^[5]。(ii) 氧化应激。纳米银可以直接刺激细胞产生活性氧(reactive oxygen species, ROS), 也可以诱导细胞发生炎症反应, 继而间接诱导 ROS 的产生^[6]。细胞内高水平 ROS 将诱导氧化应激以及一系列二级反应, 如蛋白质损伤、DNA 损伤及脂质体的过氧化等。有文献报道, 纳米

引用格式: 朱玲英, 郭大伟, 顾宁. 纳米银细胞毒性体外检测方法研究进展. 科学通报, 2014, 59: 2145-2152

Zhu L Y, Guo D W, Gu N. Advances in *in vitro* detection of cytotoxicity induced by silver nanoparticles (in Chinese). Chin Sci Bull (Chin Ver), 2014, 59: 2145-2152, doi: 10.1360/N972014-00214

银诱导的细胞毒性与线粒体依赖的 jun-N terminal kinase (JNK)途径有关^[4], 线粒体呼吸链中 O_2 能够接受电子形成 H_2O , 当纳米银处理细胞后, 呼吸链被纳米银阻断, 截住的电子使得 O_2 形成 O_2^- , 进一步形成 H_2O_2 . 我们的研究表明, 加入 ROS 清除剂维生素 C (Vitamin C, Vit C) 及乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)后, 可有效阻滞纳米银诱导产生的细胞凋亡^[7]. (iii) 纳米银直接损伤细胞膜, 但一般而言, 纳米颗粒难以进入细胞核. 纳米银引起 DNA 损伤的途径通常有两种: 第一, 在有丝分裂期, 微管蛋白产生非整倍体细胞, 使细胞核核膜破裂, 纳米银直接与 DNA 作用; 第二, 纳米银使细胞溶酶体破裂, DNase 释放到细胞质中, 进一步进入细胞核, 使 DNA 双链断裂^[6]. DNA 损伤时, 细胞周期监测蛋白 P53 发生聚集, 使细胞周期停留在 G_2/M 期, 进行 DNA 损伤修复. 而 DNA 双链断裂时, 组蛋白 H2AX 上 139 位丝氨酸将发生磷酸化. 因此, DNA 损伤时, 组蛋白 H2AX 及 DNA 损伤修复蛋白 Rad51 的表达均有所上调, 据此, 可将 P53 蛋白等作为纳米银诱导细胞毒性产生的分子标志物^[8].

由于纳米银诱导的细胞毒性受多种因素的影响, 其产生的毒性机制也不相同, 因此, 有必要同时使用不同的方法从多角度进行细胞毒性评价, 从而阐明

其毒性机制.

2 细胞毒性体外检测方法

体外检测是评价纳米材料生物安全性的重要工具, 相较于体内实验, 体外实验更加方便、经济、便于控制. 目前纳米材料细胞毒性常用的体外检测方法, 可以根据细胞活性或毒性机制进行总结归纳(表 1). 细胞活性评价包括细胞增殖、凋亡、坏死等方面, 而毒性机制的评价主要包括 DNA 损伤和氧化应激等^[9].

2.1 基于细胞活性分析的检测方法

纳米材料对细胞活性影响的体外检测方法, 主要是基于细胞增殖、细胞凋亡及细胞坏死这 3 个方面进行评价的. 目前最常用的四唑盐还原法包括 MTT, XTT, WST-1 及 CCK-8 等. 研究表明^[10], 体外四唑盐的还原与细胞增殖之间的联系是不可维持的, 且这种还原的机制目前也并不是十分清楚. Laaksonen 等人^[11]发现, 纳米硅同 MTT 的还原产物直接反应, MTT 被还原的同时, 纳米硅表面被氧化. Hussain 等人^[12]研究表明, 巯基乙胺包裹的量子点会催化还原 MTT. 与四唑盐还原法相比, 阿尔玛蓝红(Alamar red Blue, AB)法采用单一试剂, 可以连续、快速地检测细

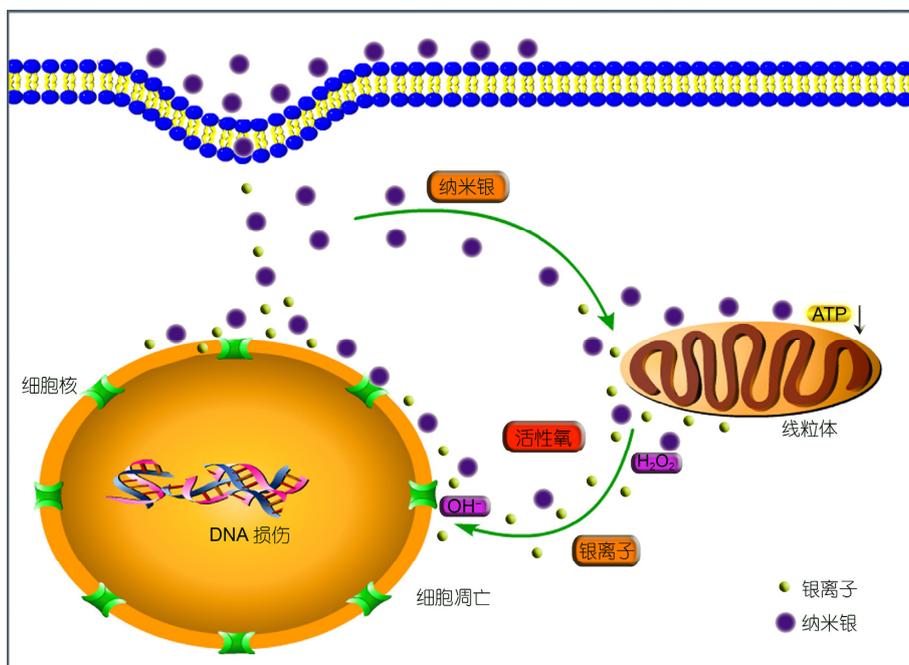


图 1 纳米银诱导细胞毒性的可能机制(改编自文献[3])

表1 纳米材料细胞毒性检测方法

实验类型	种类	评价指标	实验名称
活性	细胞增殖	代谢活性	MTT, XTT, WST-1, CCK-8, Alamar Blue
		DNA 合成	[³ H]Thymidine incorporation
	细胞凋亡	细胞膜结构	Annexin-V
机制	DNA 损伤	细胞膜完整性	LDH, TB, NR, PI
		DNA 破碎	Comet Assay, micronucleus test
	DNA 双链断开	TUNEL	
	氧化应激	ROS 产生	DCF, Rhodamine123
		SOD 表达	Immunoblotting
抗氧化物减少		DTNB	

细胞的增殖状态. 有研究表明, 在没有细胞的情况下纳米硅同 AB 发生反应^[12]. 测定掺入新合成的 DNA 中的 ³H-dT 是一种灵敏度非常高的细胞增殖检测方法. 但由于费用较高、需要接触 ³H 同位素、对体外的细胞有损伤等缺陷限制了该法的使用. 研究表明超过一定浓度的纳米银被细胞摄取后会影 响细胞活性^[13-16], 而细胞凋亡是纳米银引起细胞活性下降的主要原因^[17,18]. 细胞凋亡检测最常用的方法为膜联蛋白 V (Annexin V). Annexin V 是一种 Ca²⁺ 依赖性磷脂结合蛋白, 能与磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)高亲和特异性结合. 在细胞凋亡的早期, PS 可从细胞膜的内侧翻转到细胞膜表面. 因此, 应用 Annexin V 法可鉴定早期凋亡细胞. 细胞坏死检测主要利用细胞膜的完整性作为评价指标, 台盼蓝(Trypan Blue, TB)和碘化丙啶(Propidium Iodide, PI)是带电荷的分子, 不能进入活细胞. 当细胞膜出现破裂时, TB 和 PI 就会进入细胞中, 分别呈现蓝色和红色. 在活细胞中, 溶酶体的酸度较高 (pH 约为 4.8), NR 会被质子化并聚集于溶酶体中. 因此, NR 可使活细胞染成红色, 而死细胞不变色. 乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)法可以定量检测细胞死亡后渗漏到细胞培养基中的活性酶的量, LDH 是一种糖酵解酶, 胞膜损伤后 LDH 可快速释放到细胞培养液中, 此时, 培养液中 LDH 含量同细胞死亡数成正比. 该法优点是测定迅速, 避免了同位素的使用, 并且能够进行定量分析. 缺点是乳酸脱氢酶是大分子, 只有细胞膜完全被破坏后才能释放出来, 不能较早地反映细胞的存活状态. 但有研究表明, 依赖于细胞膜完整性的检测方法可能会影响到纳米材料透膜的过程^[19].

2.2 基于细胞毒性机制分析的检测方法

研究纳米材料对细胞毒性机制的检测方法主要是基于 DNA 损伤和氧化应激这 2 个方面来进行评价. DNA 损伤的检测方法主要有单细胞凝胶电泳法(single cell electrophoresis assay, SCGE)、微核实验(micronucleus test)、TUNEL 原位标记法等. 单细胞凝胶电泳又称彗星实验, 是目前唯一能精确地测出 DNA 修复功能并及时发现致畸物质的方法. 加入试剂造成 DNA 损伤后可将试剂除去, 然后检查损伤的程度, 但纳米颗粒会遗留在细胞内不易去除. Karlsson 等人^[6]研究发现, 使用彗星实验进行纳米银细胞毒性检测会影响到细胞对纳米颗粒的吸收. 微核实验通常与彗星实验一起用来检测 DNA 的损伤, 然而这 2 种方法时常得到完全不同的结果, 这可能是由于微核实验过程中使用的细胞松弛素 B 抑制了纳米颗粒吞噬, 从而影 响细胞毒性. 而在显微镜下纳米颗粒也会干扰实验结果的分析^[20], 即便如此, 仍有许多研究使用这种方法. TUNEL 原位标记法是分子生物学与形态学相结合的方法, 可检测出极少量的早期凋亡细胞, 且特异性和灵敏度都较高. 纳米银在引起细胞凋亡的过程中多伴随 DNA 的损伤^[21,22], 这种损伤与细胞内的氧化应激水平有关^[16,23]. 氧化应激是指机体在遭受各种有害刺激时, 体内高活性分子如活性氧(reactive oxygen species, ROS)和活性氮(reactive nitrogen species, RNS)产生过多, 氧化程度超出氧化物的清除, 氧化系统和抗氧化系统失衡, 从而导致组织损伤. 二氯荧光黄(dichlorofluorescein, DCF)法是目前检测 ROS 最常用的方法, 利用 DCF 的荧光变化反映细胞内活性氧的水平. 而许多文献表

明 ROS 的产生与纳米银诱导细胞凋亡有关^[24,25]。

3 纳米银细胞毒性体外检测的现状、难点及可能的对策

对近年来纳米银诱导细胞毒性的体外研究中所使用的方法进行了整理, 参见表 2。目前纳米银细胞毒性的体外研究中最常用的方法为 MTT 法、Annexin V-PI 法及 DCF 法。许多研究在检测纳米银细胞毒性中使用这些方法, 结果显示, 纳米银处理的细胞相较于未用纳米银处理的细胞呈现出显著的细胞毒性变化($P<0.05$), 且这种毒性表现出显著的剂量依赖性, 这个过程中涉及 ROS 的产生及 DNA 损伤^[13,21,23,26]。纳米银的毒性效应与其粒径及表面特性密切相关, 对不同的细胞类型的毒性也有所差异^[4,9,27]。大多数体外研究中使用癌细胞作为研究对象, 纳米银暴露时间较短(4~48 h), 纳米银的使用浓度范围较大(0~500 $\mu\text{g/mL}$), 粒径也从几纳米到几百纳米不等。Yang 等人^[28]研究表明, 纳米银(0~0.65 $\mu\text{g/mL}$)处理 PBMC 细胞 6 h 后用 CCK-8 法检测细胞活性, 相较于 100, 5 及 28 nm 的纳米银显示出更强的毒性。然而, 由于不同实验研究之间纳米银的制备方法、理化性质及使用浓度等因素的不同, 大多数研究都使用了多种方法进行纳米银细胞毒性的体外评价, 如文献^[27]使用了 MTT, LDH, AB 和 DCF 法从多角度出发进行毒性评价。许多研究工作可以根据研究的侧重点不

同而选择不同的毒性检测方法, 少部分研究中使用了染色法通过检测细胞膜完整性来评价纳米银对细胞活性的影响, 其中常用的是 TB 活细胞计数法^[21,23]。目前纳米银细胞毒性的体外检测就上述方法而言, 从检测指标, 如灵敏度、特异性、成本、使用是否方便安全来说, 四唑盐还原法受到了更多的青睐, 但 MTT 操作较为繁琐, 其产物也可能同纳米材料相互作用。而基于细胞膜完整性检测的实验方法由于依赖试剂透膜过程, 实验中需考虑到这一过程对纳米材料的影响, 纳米材料是否有可能吸附到试剂表面从而更易进入细胞而扩大毒性^[19]。有些文献中将各种不同的检测方法进行了比较, 如文献^[26]的毒性实验结果显示, 采用 MTT 法检测纳米银细胞毒性显著大于考马斯亮蓝 (Coomassie brilliant blue, CB)法。MTT 的检测机制依赖于酶活性, 而 CB 则依赖于蛋白质, 由此可认为线粒体是纳米银毒性的靶标。然而, 由于各个实验之间具有独立性, 针对于采用不同的纳米银材料、不同的处理条件及细胞类型, 并不能仅仅因为一个个体性的结果来说明整体性的差异。要建立一个标准的纳米银细胞毒性体外检测方法需要进行长期地探索与不断地改进, 建立系统的实验模型。

目前, 对于纳米银细胞毒性的检测方法并没有一个统一的衡量标准, 主要是由于^[13]: (i) 缺乏纳米材料的剂量标准; (ii) 纳米材料理化性质描述不完全; (iii) 缺乏国际公认的相关纳米材料的比较研

表 2 纳米银细胞毒性的体外研究

年份	细胞	毒性检测方法	纳米银质量浓度 (mg/mL)	纳米银尺寸 (nm)	参考文献
2014	HL-60, HepG2, Jurkat	MTT, LDH, DCF, TB	0~500	4.7, 42	[16,21]
2013	A431, A549, RAW264.7, BEAS 2B, MDA-MB-231, RBE4	MTT, DCF, TB, Comet assay, Micronucleus assay, PI, LDH	0~200	10~440	[25,17,22,30~31]
2012	A549, HepG2, THP-1, Mouse testicular cells, PBMCs	MTT, CCK-8, Annexin V/PI, PI, Comet Assay WST-1, LDH, DCF	0~140	5~200	[18,26,28,32,33]
2011	RAW264.7, J774.1, A549m A498, HepG2, Neuro 2A, PC12, MDCK, HepG2	CB, DCF, Annexin V, DNA laddering, [³ H]Thymidine, incorporation, Comet Assay	6.25~200	10~2000	[24,34,37]
2010	HaCaT, MCF-7, C18-4, HEKs, keratinocytes, Promelas embryos, HepG2	MTT, PI, DAPI, TB, TUNEL, LDH, Rhodamine, 96AQ, Alamarred Blue, Comet Assay, 32P, Annexin V, XTT	0~100	10~100	[5,38~43]
2009	HepG2, BRECs, Human mesenchymal stem cells, IMR-90, U251, THP-1, Primary fibroblasts and Primary liver cells	MTT, LDH, Alamar Blue, DCF, Western blot, DNA ladder, Micronucleus test, Annexin V, PI, Comet Assay, TUNEL, XTT	0~2500	1~300	[15,25,27,47]
2008	NIH3T3, A10, HT-1080, A431, Mes, MEF, Macrophages	MTT, Annexin V, Western blot, XTT, DNA laddering, LDH, DCF	0~75	1~100	[4,8,48,49]
2007	PBMCs	MTT	10	1~2.5	[50]
2006	PC-12	MTT, DCF	0~30	15	[51]
2005	BRL 3A, BALB/c mice, HIV-1	LDH, MTT, DCF TUNEL, TB	0~250	1~100	[12,52,53]

究; (iv) 纳米材料毒性定量分析实验具有局限性. 而由于纳米银细胞毒性存在多种可能的机制, 有必要从多个评价指标来进行检测, 在大多数的研究中都会使用多种检测方法从不同角度来进行分析, 以获得较为准确全面的结论, 而建立一个纳米银在较大浓度范围内、暴露条件下全面评估多种因素的毒性检测方法是很有必要的. 另一方面纳米银细胞毒性并不仅仅表现在细胞凋亡、坏死等显著变化的生物学效应, 一些亚毒性细胞变化例如衰老、炎症等也应予以重视. Lim 及 Kawata 等人^[14,15]利用基因芯片(microarray)进行高通量筛选发现亚毒性纳米银处理条件下, 一些与炎症反应, 细胞周期相关的基因表达升高. 这种新型的实验手段灵敏度高, 检测包含面广, 从基因水平更加精确得研究纳米银对细胞的体外毒性, 但检测成本较高. 而无论是分子层面、细胞层面还是组织层面, 有限的实验条件下进行的短时间定量分析很难推广到复杂的生物自然环境下的实际情况, 并且有限的实验条件也不足以使人们对复杂的问题达成共识, 因此在原有实验的基础上建立专门用于纳米材料的毒性检测方法是人们所期待的, 这不仅需要考虑到纳米材料独特的理化性质, 建立一个标准系统的实验对照, 还需要长时间系统性的实验参考. 并且纳米银细胞毒性的体外检测最终应该与体内检测联系起来, 这里对于临床样本的检测就显得尤为重要了, 在我们之前的研究工作中, Guo 等人^[7,29]利用TB活细胞计数法检测了PVP包裹的纳米银对慢性粒细胞白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)及急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)患者样本的细胞活性影响, 研究发现, 纳米银无论是对于AML还是CML都呈现出显著的细胞毒性, 然而, 在较低浓度条件下(<4 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 患者样本相较于正常骨髓(normal bone marrow, NBM)细胞呈现出更加敏感的细胞活性变化. 在我们接下来的研究中将进一步展开纳米银对其他类型细胞样本的体外检测实验, 以期能够更加系统、可靠地评估纳米银诱导的细胞毒性.

4 总结

纳米银在医药领域及日常生活中的广泛应用使其对人体健康具有潜在的危害. 体外细胞实验为评价纳米银细胞毒性提供了有力手段, 然而, 迄今为止纳米银细胞毒性评价方法不尽相同, 人们对研究中

使用的纳米银材料的组成成分、制备方式、暴露途径、形貌粒径的描述也有所差别, 因此很难将所有的实验放在一起比较并得到定论. 文章回顾了纳米银细胞毒性的体外检测方法, 基于不同评价指标将这些方法进行归类, 从细胞活性和毒性机制2方面进行综述. 笔者认为, 在今后的纳米银细胞毒性体外检测实验中, 以下问题应予以重视: (i) 纳米颗粒与细胞相互作用的影响因素, 许多文献表明纳米颗粒在细胞内与蛋白质相互作用^[54], 蛋白吸附在纳米颗粒表面形成蛋白冠, 可提高纳米颗粒的稳定性, 同时可能会影响到纳米材料的生物学效应. 大多数蛋白与纳米颗粒是非特异性吸附, 这种吸附可以被具有更高亲和力的蛋白所取代^[55], 并且纳米颗粒吸附蛋白质可增强其与细胞间的联系, 或有可能影响细胞中酶活性等^[56]. 然而传统的毒性实验中并未将蛋白质标志或去除, 蛋白包覆影响了纳米颗粒与细胞的作用, 而在无血清培养液下可能导致纳米颗粒的不稳定, 同样影响纳米颗粒与细胞的作用. 影响纳米颗粒与细胞作用的因素还有许多, 纳米银细胞毒性的体外检测应该考虑到纳米银是否会同试剂相互作用以及试剂使用过程是否会影响到细胞对纳米银的摄取. 事实上, 由前部分的论述可以看出这些可能性并不能够被排除, 因此, 所有这些毒性实验都需要一个高标准的对照实验. (ii) 细胞对纳米银的摄取过程, 这一过程是影响纳米银细胞毒性的重要因素, 只有充分了解这个过程才能够避免实验过程对于毒性检测的影响, 然而, 目前关于这方面的研究仍有不足.

体外毒性实验的最终目的是为体内毒性实验服务, 因此, 要把体内和体外毒性实验联系起来, 但目前这方面研究还比较缺乏. 为了将体内和体外毒性实验联系起来, 我们需要很准确的剂量、浓度、操作过程和分析, 这是一个很复杂的过程, 需要考虑许多方面. 关于纳米银细胞毒性的研究也多为体外实验, 由于各个研究使用不同的实验对象、处理条件及检测模型, 对纳米银的毒性进行总结是相当困难的. 迄今为止, 国内外对于纳米银细胞毒性的研究方法多集中于形态学的测定, 而整体水平的测定少有报道, 全面诠释纳米银对生物体的影响, 需要从分子、细胞、基因、整体水平上系统性地研究. 纳米材料毒性的研究, 会促使人们重新设计、制造毒性较小的纳米银材料, 最终使纳米科技成为安全造福人类的新技术.

参考文献

- 1 Sintubin L, Verstraete W, Boon N. Biologically produced nanosilver: Current state and future perspectives. *Biotechnol Bioeng*, 2012, 109: 2422–2436
- 2 Takhar P M S. *In vitro* methods for nanotoxicity assessment: Advantages and applications. *Arch Appl Sci Res*, 2011, 3: 389–403
- 3 You C, Han C, Wang X, et al. The progress of silver nanoparticles in the antibacterial mechanism, clinical application and cytotoxicity. *Mol Biol Rep*, 2012, 39: 9193–9201
- 4 Hsin Y H, Chen C F, Huang S, et al. The apoptotic effect of nanosilver is mediated by a ROS- and JNK-dependent mechanism involving the mitochondrial pathway in NIH3T3 cells. *Toxicol Lett*, 2008, 179: 130–139
- 5 Marambio-Jones C, Hoek E M V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. *J Nanopart Res*, 2010, 12: 1531–1551
- 6 Karlsson H L. The comet assay in nanotoxicology research. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 398: 651–666
- 7 Guo D, Zhu L, Huang Z, et al. Anti-leukemia activity of PVP-coated silver nanoparticles via generation of reactive oxygen species and release of silver ions. *Biomaterials*, 2013, 34: 7884–7894
- 8 Ahamed M, Karns M, Goodson M, et al. DNA damage response to different surface chemistry of silver nanoparticles in mammalian cells. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2008, 233: 404–410
- 9 Yen H J, Hsu S H, Tsai C L. Cytotoxicity and immunological response of gold and silver nanoparticles of different sizes. *Small*, 2009, 5: 1553–1561
- 10 Marshall N J, Goodwin C J, Holt S J. A critical assessment of the use of microculture tetrazolium assays to measure cell growth and function. *Growth Regul*, 1995, 5: 69–84
- 11 Laaksonen T, Santos H, Vihola H, et al. Failure of MTT as a toxicity testing agent for mesoporous silicon microparticles. *Chem Res Toxicol*, 2007, 20: 1913–1918
- 12 Hussain S M, Hess K L, Gearhart J M, et al. *In vitro* toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. *Toxicol In Vitro*, 2005, 19: 975–983
- 13 Hillegass J M, Shukla A, Lathrop S A, et al. Assessing nanotoxicity in cells *in vitro*. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2010, 2: 219–231
- 14 Lim D H, Jang J, Kim S, et al. The effects of sub-lethal concentrations of silver nanoparticles on inflammatory and stress genes in human macrophages using cDNA microarray analysis. *Biomaterials*, 2012, 33: 4690–4699
- 15 Kawata K, Osawa M, Okabe S. *In vitro* toxicity of silver nanoparticles at noncytotoxic doses to HepG2 human hepatoma cells. *Environ Sci Technol*, 2009, 43: 6046–6051
- 16 Avalos A, Haza A I, Mateo D, et al. Cytotoxicity and ROS production of manufactured silver nanoparticles of different sizes in hepatoma and leukemia cells. *J Appl Toxicol*, 2014, 34: 413–423
- 17 Chairuangkitti P, Lawanprasert S, Roytrakul S, et al. Silver nanoparticles induce toxicity in A549 cells via ROS-dependent and ROS-independent pathways. *Toxicol In Vitro*, 2013, 27: 330–338
- 18 Beer C, Foldbjerg R, Hayashi Y, et al. Toxicity of silver nanoparticles—nanoparticle or silver ion? *Toxicol Lett*, 2012, 208: 286–292
- 19 Monteiro-Riviere N A, Inman A O. Challenges for assessing carbon nanomaterial toxicity to the skin. *Carbon*, 2006, 44: 1070–1078
- 20 Falck G C, Lindberg H K, Suhonen S, et al. Genotoxic effects of nanosized and fine TiO₂. *Hum Exp Toxicol*, 2009, 28: 339–352
- 21 Chatterjee N, Eom H J, Choi J. Effects of silver nanoparticles on oxidative DNA damage-repair as a function of p38 MAPK status: A comparative approach using human Jurkat T cells and the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Environ Mol Mutagen*, 2014, 55: 122–133
- 22 Gurunathan S, Han J W, Eppakayala V, et al. Cytotoxicity of biologically synthesized silver nanoparticles in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 1–10
- 23 Nymark P, Catalan J, Suhonen S, et al. Genotoxicity of polyvinylpyrrolidone-coated silver nanoparticles in BEAS 2B cells. *Toxicology*, 2013, 313: 38–48
- 24 Singh R P, Ramarao P. Cellular uptake, intracellular trafficking and cytotoxicity of silver nanoparticles. *Toxicol Lett*, 2012, 213: 249–259
- 25 Foldbjerg R, Olesen P, Hougaard M, et al. PVP-coated silver nanoparticles and silver ions induce reactive oxygen species, apoptosis and necrosis in THP-1 monocytes. *Toxicol Lett*, 2009, 190: 156–162
- 26 Lankoff A, Sandberg W J, Wegierek-Ciuk A, et al. The effect of agglomeration state of silver and titanium dioxide nanoparticles on cellular response of HepG2, A549 and THP-1 cells. *Toxicol Lett*, 2012, 208: 197–213
- 27 Kim S, Choi J E, Choi J, et al. Oxidative stress-dependent toxicity of silver nanoparticles in human hepatoma cells. *Toxicol In Vitro*, 2009, 23: 1076–1084

- 28 Yang E J, Kim S, Kim J S, et al. Inflammasome formation and IL-1beta release by human blood monocytes in response to silver nanoparticles. *Biomaterials*, 2012, 33: 6858–6867
- 29 Guo D, Zhao Y, Zhang Y, et al. The cellular uptake and cytotoxic effect of silver nanoparticles on chronic myeloid leukemia cells. *J Biomed Nanotechnol*, 2014, 10: 669–678
- 30 Kaur J, Tikoo K. Evaluating cell specific cytotoxicity of differentially charged silver nanoparticles. *Food Chem Toxicol*, 2013, 51: 1–14
- 31 Grosse S, Evje L, Syversen T. Silver nanoparticle-induced cytotoxicity in rat brain endothelial cell culture. *Toxicol In Vitro*, 2013, 27: 305–313
- 32 Asare N, Instanes C, Sandberg W J, et al. Cytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles in testicular cells. *Toxicology*, 2012, 291: 65–72
- 33 Haase A, Mantion A, Graf P, et al. A novel type of silver nanoparticles and their advantages in toxicity testing in cell culture systems. *Arch Toxicol*, 2012, 86: 1089–1098
- 34 Foldbjerg R, Dang D A, Autrup H. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in the human lung cancer cell line, A549. *Arch Toxicol*, 2011, 85: 743–750
- 35 Powers C M, Badireddy A R, Ryde I T, et al. Silver nanoparticles compromise neurodevelopment in PC12 cells: Critical contributions of silver ion, particle size, coating, and composition. *Environ Health Perspect*, 2011, 119: 37–44
- 36 Xiang D X, Chen Q, Pang L, et al. Inhibitory effects of silver nanoparticles on H1N1 influenza A virus *in vitro*. *J Virol Methods*, 2011, 178: 137–142
- 37 Wojewódzka M L A, Dusińska M. Treatment with silver nanoparticles delays repair of X-ray induced DNA damage in HepG2 cells. *Nukleonika*, 2011, 56: 29–33
- 38 Franco-Molina M A, Mendoza-Gamboa E, Sierra-Rivera C A, et al. Antitumor activity of colloidal silver on MCF-7 human breast cancer cells. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29: 148–154
- 39 Braydich-Stolle L K, Lucas B, Schrand A, et al. Silver nanoparticles disrupt GDNF/Fyn kinase signaling in spermatogonial stem cells. *Toxicol Sci*, 2010, 116: 577–589
- 40 Samberg M E, Oldenburg S J, Monteiro-Riviere N A. Evaluation of silver nanoparticle toxicity in skin *in vivo* and keratinocytes *in vitro*. *Environ Health Perspect*, 2010, 118: 407–413
- 41 Lu W, Senapati D, Wang S, et al. Effect of surface coating on the toxicity of silver nanomaterials on human skin keratinocytes. *Chem Phys Lett*, 2010, 487: 92–96
- 42 Laban G, Nies L F, Turco R F, et al. The effects of silver nanoparticles on fathead minnow (*Pimephales promelas*) embryos. *Ecotoxicology*, 2010, 19: 185–195
- 43 Nowrouzi A, Meghraz K, Golmohammadi T, et al. Cytotoxicity of subtoxic AgNP in human hepatoma cell line (HepG2) after long-term exposure. *Iran Biomed J*, 2010, 14: 23–32
- 44 Kalishwaralal K, Banumathi E, Ram Kumar Pandian S, et al. Silver nanoparticles inhibit VEGF induced cell proliferation and migration in bovine retinal endothelial cells. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2009, 73: 51–57
- 45 Kittler S, Greulich C, Köller M, et al. Synthesis of PVP-coated silver nanoparticles and their biological activity towards human mesenchymal stem cells. *Materialwiss Werkst*, 2009, 40: 258–264
- 46 AshaRani P V, Low Kah Mun G, Hande M P, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS Nano*, 2009, 3: 279–290
- 47 Arora S, Jain J, Rajwade J M, et al. Interactions of silver nanoparticles with primary mouse fibroblasts and liver cells. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009, 236: 310–318
- 48 Arora S, Jain J, Rajwade J M, et al. Cellular responses induced by silver nanoparticles: *In vitro* studies. *Toxicol Lett*, 2008, 179: 93–100
- 49 Carlson C, Hussain S M, Schrand A M, et al. Unique cellular interaction of silver nanoparticles: Size-dependent generation of reactive oxygen species. *J Phys Chem B*, 2008, 112: 13608–13619
- 50 Shin S H, Ye M K, Kim H S, et al. The effects of nano-silver on the proliferation and cytokine expression by peripheral blood mononuclear cells. *Int Immunopharmacol*, 2007, 7: 1813–1818
- 51 Hussain S M, Javorina A K, Schrand A M, et al. The interaction of manganese nanoparticles with PC-12 cells induces dopamine depletion. *Toxicol Sci*, 2006, 92: 456–463
- 52 Bhol K C, Schechter P J. Topical nanocrystalline silver cream suppresses inflammatory cytokines and induces apoptosis of inflammatory cells in a murine model of allergic contact dermatitis. *Br J Dermatol*, 2005, 152: 1235–1242
- 53 Elechiguerra J L, Burt J L, Morones J R, et al. Interaction of silver nanoparticles with HIV-1. *J Nanobiotechnol*, 2005, 3: 1–10
- 54 Lewinski N, Colvin V, Drezek R. Cytotoxicity of nanoparticles. *Small*, 2008, 4: 26–49
- 55 Ehrenberg M S, Friedman A E, Finkelstein J N, et al. The influence of protein adsorption on nanoparticle association with cultured endothelial cells. *Biomaterials*, 2009, 30: 603–610

Advances in *in vitro* detection of cytotoxicity induced by silver nanoparticles

ZHU LingYing^{1,2}, GUO DaWei^{1,2} & GU Ning^{1,2}

¹Jiangsu Key Laboratory for Biomaterials and Devices, State Key Laboratory of Bioelectronics, School of Biological Science and Medical Engineering, Southeast University, Nanjing 210096, China;

²Suzhou Key Laboratory of Biomedical Materials and Technology, Research Institute of Southeast University in Suzhou, Suzhou 215123, China

Silver nanoparticles (AgNPs) are widely used in the fields of biology and medicine because of their excellent optical, electrical and antimicrobial properties. AgNPs can induce cytotoxicity in various cells and organisms, which might be helpful to combat diseases. However, the biohazardous nature of AgNPs is a serious concern. More studies that focus on evaluation of the cytotoxicity of AgNPs are needed so that we can use AgNPs more effectively and minimize their toxicity. Recently, many methods to investigate the *in vitro* cytotoxicity of AgNPs have been reported. This paper reviews the important progress in this field to act as a reference for further AgNP experiments *in vivo* and in clinical settings.

silver nanoparticle, cytotoxicity, *in vitro* detection, mechanism of cytotoxicity

doi: 10.1360/N972014-00214

《科学通报》(Chinese Science Bulletin) 征稿简则

《科学通报》(Chinese Science Bulletin) 创刊于 1950 年, 是中国科学院和国家自然科学基金委员会共同主办、《中国科学》杂志社出版的自然科学综合性学术刊物。《科学通报》致力于快速报道自然科学各学科基础理论和应用研究的最新研究动态、消息、进展, 点评研究动态和学科发展趋势, 要求文章的可读性强, 能在比较宽泛的学术领域产生深刻的影响。2010 年起《科学通报》改为旬刊, 每月 10 日、20 日、30 日(2 月最后一天)出版。

《科学通报》是《中国科技论文与引文数据库》和《中国科学引文数据库》的源期刊, 被《中国期刊全文数据库》收录, 并进入《中文核心期刊要目总览》。

《科学通报》的英文版 Chinese Science Bulletin 是 SCI 核心期刊, 同时被 Academic Search Complete, Chemical Abstracts, Current Contents, Environmental Engineering Abstracts, Environmental Sciences and Pollution Management, Inspec, Pollution Abstracts, Water Resources Abstracts, Zoological Record 等国际著名检索系统和数据库收录。

1. 《科学通报》设有以下主要栏目:

(1) 综述类

进展: 评介当前迅速发展的某个研究领域或方向的突出进展, 归纳总结该领域近期取得的最新成果, 分析其创新性和科学意义(不超过 6 个印刷面)。

评述: 综述某一重要研究领域的重要成果, 评论研究现状, 提出今后研究方向的建议(一般不超过 10 个印刷面)。

(2) 论文类

快讯: 迅速、简要地报道具创新性和新颖性的科研成果(不超过 4 个印刷面)。

论文: 报道具创新性、高水平 and 重要科学意义的最新科研成果(一般不超过 7 个印刷面)。

(3) 讨论类

社论: 快速评介近期在国内外重要刊物上发表的重要研究成果, 以及国际和国家级的重大科技奖项的研究成果(2 个印刷面)。

观点: 对重要科学问题、科研管理政策或国家重大科技规划发表评论, 对科学发展与社会进步的关系等理论问题提出看法(4 个印刷面)。

争鸣: 对当前科学研究中的某个有争议的热点问题介绍并予以评论; 对《科学通报》发表的文章进行讨论和答辩(3 个印刷面)。

(4) 消息类

科学新闻: 报道国内外重大科技新闻、科研信息、重要科研项目、我国科学界近期的重要学术活动以及重要学术会议等(1 个印刷面)。

科学访谈: 对重要科学人物、国内外重点实验室进行专访(2 个印刷面)。

简报: 简要介绍发表在《科学通报》英文版(Chinese Science Bulletin)上的论文及快讯文章的主要内容(1 个印刷面)。

书评: 评介国内外近期出版的高水平、高质量的自然科学学术论著(1 个印刷面)。

2. 请使用在线方式投稿: 访问本刊网站 csb.scichina.com, 进入“作者投稿系统”。首次投稿时需注册一个“作者账户”, 注册完成之后, 按照提示与引导将稿件上传到数据库服务器。

3. 稿件的取舍将由本刊编委会决定, 评审过程大约需要 30 天。评审结束后, 无论录用与否, 编辑部将及时向作者转达评审意见。作者若在 60 天内没有收到编辑部有关稿件的取舍意见, 请及时与编辑部联系。作者在通知编辑部后, 可以改投他刊。本刊不接受“一稿多投”之稿件。

4. 稿件被录用后, 全体作者必须签署“著作权转让声明书”, 将该论文(各种语言版本)的复制权、发行权、信息网络传播权、翻译权、汇编权在全世界范围内转让给《科学通报》的出版单位《中国科学》杂志社。全体著作权人授权《中国科学》杂志社根据实际需要独家代理申请上述作品的各种语言版本(包含各种介质)的版权登记事项。

5. 详细的投稿指南请见《中国科学》杂志社网站《科学通报》主页。

科学通报

CHINESE SCIENCE BULLETIN

第 59 卷 第 22 期 2014 年 8 月 10 日出版

(版权所有, 未经许可, 不得转载)

主管	中国科学院	出版	《中国科学》杂志社
编辑	中国科学院 《科学通报》编辑委员会	印刷装订	北京(100717)东黄城根北街 16 号
总主编	朱作言	总发行处	北京艺堂印刷有限公司
		订购处	北京报刊发行局
			全国各邮电局
			《中国科学》杂志社发行部

刊号: ISSN 0023-074X
CN 11-1784/N

代号: 国外 TM41
国内邮发 80-213

每期定价: 120.00 元 全年定价: 4320.00 元

广告经营许可证: 京东工商广字第 0429 号



全国植物生物学大会

National Congress of Plant Biology

为展现我国植物生物学研究的新成果，促进科研人员、研究生之间的交流与合作，中国植物学会、中国植物生理与分子生物学会、中国细胞生物学学会、中国遗传学会、中国作物学会联合组织【2014年全国植物生物学大会】。这是国内植物生物学领域水平高、规模大、影响深远的学术盛会。本次会议将于2014年9月11—14日在河南开封召开。大会将邀请植物生物学领域著名专家和近年来崭露头角的中青年学者作学术报告，并提供充足的墙报和最新科学仪器展示空间，为学术交流提供良好的平台。组委会诚挚欢迎国内外同行参加本次大会。

大会主席：

许智宏 李家洋 武维华 宋纯鹏

大会副主席：

陈晓亚 邓兴旺 林鸿宣 孙大业
张启发 朱健康 朱玉贤

九个专题：

- ★ 植物发育生物学
- ★ 植物细胞结构与功能
- ★ 蛋白组学和代谢组学
- ★ 植物激素信号转导
- ★ 生物逆境
- ★ 非生物胁迫适应机理
- ★ 表观遗传学
- ★ 遗传与演化
- ★ 光合作用与光信号

分会报告人：

白书农 陈浩东 贺超英 侯岁稳 倪中福 秦跟基 谭保才 童依平 王雷 谢旭亮 叶德 张红生
郑丙莲 傅纛 黄善金 姜里文 孔照胜 毛同林 潘建伟 张彦 周奕华 程志军 李凝 刘进元
罗杰 余益民 石建新 汪迎春 王晓武 丁兆军 傅向东 郭红卫 焦雨铃 李云海 王学路 王永红
徐华强 徐通达 余迪求 赵忠 柴继杰 李毅 刘树生 刘玉乐 沈前华 唐定中 王二涛 代明珠
巩志忠 胡红红 蒋才富 李霞 宋纯鹏 苏钊 王永飞 张劲松 曹晓凤 方玉达 何新建 钱伟强
朱丹萌 郭亚龙 刘宝 刘建全 施苏华 王印政 黄继荣 黄焯 刘宏涛 彭连伟 张骁

大会组委会：

主任：宋纯鹏 瞿礼嘉
副主任：刘春明 左建儒
秘书长：瞿礼嘉(兼)
成员：巩志忠 何祖华 陈凡 杨淑华
毛龙 任海云

特邀大会报告：

朱玉贤 院士 北京大学
韩斌 院士 中国科学院上海生命科学研究院
林鸿宣 院士 中国科学院上海生命科学研究院
马红 教授 复旦大学
孙蒙祥 教授 武汉大学
左建儒 研究员 中国科学院遗传与发育生物学研究所
万建民 研究员 中国农业科学院
戚益军 教授 清华大学
郭岩 教授 中国农业大学
张立新 研究员 中国科学院植物研究所

会议注册：请登录大会网站 (<http://www.ncpb.net/2014>) 注册

本次会议限额700人，注册以收到注册费先后为序，额满为止。

会议时间：2014年9月11—14日

会议地点：河南开封中州国际饭店

主办单位：中国植物学会 中国植物生理与分子生物学会 中国细胞生物学学会 中国遗传学会 中国作物学会

承办单位：中国植物学会植物生理及分子生物学专业委员会 河南大学

协办单位：棉花生物学国家重点实验室（河南大学）

植物生理学与生物化学国家重点实验室（中国农业大学）

蛋白质与植物基因研究国家重点实验室（北京大学）

植物基因组学国家重点实验室（中国科学院遗传与发育生物学研究所）

分子发育生物学国家重点实验室（中国科学院遗传与发育生物学研究所）

植物分子遗传国家重点实验室（中国科学院上海植物生理生态研究所）

中国科学院植物分子生理学重点实验室（中国科学院植物研究所）

河南省植物逆境生物学重点实验室（河南大学）

ISSN 0023-074X



联系人：周云（河南大学）0371-23880007, 18637891028

