

## 基因兴奋剂检测的现状与策略

何坚刚, 刘震, 刘晶, 窦鹏, 陈洪渊

(南京大学化学化工学院 教育部生命分析化学重点实验室, 江苏 南京 210093)

**摘要** :本文综述了基因兴奋剂检测的现状和反基因兴奋剂的策略。归纳了可能被运动员滥用的基因兴奋剂,分析了由这些基因表达的促红细胞生成素(EPO)、人生长激素(hGH)等蛋白的检测进展,讨论了未来检测基因兴奋剂的可能策略。

**关键词** :基因兴奋剂;重组蛋白;检测;综述

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2008)04-0402-06 栏目类别 :兴奋剂检测方法专栏

## Advances and strategies in gene doping detection

HE Jiangang, LIU Zhen, LIU Jing, DOU Peng, CHEN Hong-Yuan

(Key Lab of Analytical Chemistry for Life Science, Ministry of Education, School of Chemistry and Chemical Engineering, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

**Abstract** : This review surveys the recent status of gene doping detection and the strategies for anti-gene doping. The main gene doping candidates for athletes are summarized, and the advances in the detection of the proteins expressed by these genes such as erythropoietin (EPO) and human growth hormone (hGH) are reviewed. The potential detection strategies for further gene doping analysis are also discussed.

**Key words** : gene doping; recombinant proteins; detection; review

随着2008年北京奥运会的临近,兴奋剂检测受到越来越多的关注。奥运会不仅是运动员之间的比赛,也是兴奋剂使用者与检测者之间的较量。由于禁药的开发和服用自20世纪50年代就已经开始,而世界反兴奋剂机构(WADA)在1999年11月10日才成立,因此兴奋剂的检测往往滞后于兴奋剂的滥用。随着近年来反兴奋剂的各方(体育组织、科学家、兴奋剂检查机构和政府)的通力合作使反兴奋剂力度越来越大,兴奋剂的检测与滥用之间较量的差距也越来越小。然而,一种新型兴奋剂——基因兴奋剂的出现,使现有的兴奋剂检测方法又面临着全新的巨大挑战。

基因兴奋剂技术是以病毒等载体将可作为兴奋剂使用的重组蛋白的基因植入人体内,并在人体细胞中表达,在体内形成一个局部的兴奋剂制造基地,所表达出的刺激物与人体自身的内源物质在结构上差别极小,很难区分,而且部分肌肉细胞中表达的刺激物或代谢物甚至不会进入血液循环中,因此使传

统的尿样和血样检测都遇到巨大的困难。为此,从2003年起国际奥委会(IOC)和WADA明确禁止使用此类基因技术来提高运动员成绩,基因兴奋剂和部分由基因技术生产出来的重组蛋白兴奋剂均已列入WADA公布的禁用名单<sup>[1]</sup>。

兴奋剂的检测是一项艰巨的工作,以合成代谢类固醇THG(tetrahydrogestrinone,四氢孕三烯酮)为例,世界上最有经验的科学家运用了最先进的实验手段,花费了超过3个月的时间,耗费了数十万美元,才查清THG成分并开发出相应的检测方法。重组蛋白和基因兴奋剂的检测难度更大,自1989年重组人促红细胞生成素(rhEPO)商品化,1990年WADA和IOC禁用rhEPO到2000年官方检测方法出台用了10年多的时间。而对于基因兴奋剂而言,WADA目前尚未出台任何检测方法。因此,一些科学家指出基因兴奋剂将是未来兴奋剂检测的重点和难点,他们甚至预测2008年可能会是出现基因兴奋剂“改造”血液和肌肉的第一届奥运会<sup>[2]</sup>。这些可

收稿日期 2008-01-05

第一作者:何坚刚,博士研究生。

通讯联系人:刘震,教授,博士生导师。Tel: (025)83685639, E-mail: zhenliu@nju.edu.cn;

陈洪渊,教授,中国科学院院士。Tel: (025)83594862, E-mail: hychen@nju.edu.cn.

基金项目:国家自然科学基金科技奥运重点项目(No. 20635002)和国家自然科学基金面上项目(No. 20675038)资助。

能会出现的基因兴奋剂包括促红细胞生成素(EPO)基因、人生长激素(hGH)基因、胰岛素样生长因子-I(IGF-I)基因、过氧化物酶体增殖物活化受体 $\delta$ (peroxisome proliferators-activated receptor $\delta$ , PPAR $\delta$ )基因、肌肉生长抑制素(myostatin, MSTN)基因、基因诱导缺氧因子(HIF)等。随着研究的不断深入,与运动有关的基因将不断被发现。

基因	表达后的蛋白	蛋白功能	增强的能力	文献
EPO 基因	促红细胞生成素	增加红细胞数量,提高血液的携氧能力	耐力	[3-6]
IGF-I 基因	含70个氨基酸的蛋白	提高肌肉尺寸和重量	力量	[7,8]
hGH 基因	有多种亚型的生长激素	提高肌肉尺寸和重量	力量	[9]
PPAR $\delta$ 基因	核激素受体蛋白	增加骨骼肌中慢收缩纤维	速度和耐力	[10]
Myostatin 基因	含两个亚基的蛋白,每个亚基含110个氨基酸	肌细胞抑制因子,去除后使肌肉发达	力量	[11]

### 1.1 EPO 基因

人体中的 EPO 是由肾脏分泌的一种糖蛋白激素,它由 165 个氨基酸残基组成,相对分子质量( $M_r$ )为 34 000,多肽链部分的  $M_r$  为 18 000,糖基部分的  $M_r$  占总  $M_r$  的 40% 左右,其中包括 3 个 N-糖基(分别位于天冬氨酸 Asp24, Asp38, Asp83)和一个 O-糖基(位于 Ser126)。糖基部分的主要成分是甘露糖、岩藻糖、唾液酸等组成的低聚糖<sup>[12]</sup>。EPO 能够促进红细胞生成,服用 rhEPO 可以增加肾病贫血病人的血流比溶度(即增加血液中红细胞的百分比)。自 1989 年 rhEPO 商品化以来已被广泛应用于肾病贫血的治疗。另一方面,由于 rhEPO 能够刺激骨髓造血功能,及时有效地增加红细胞的数量,从而提高血液的携氧能力,甚至使用后的 120 d 内都能使血红蛋白提高,使红细胞比积平均增加 7%,从而增强机体对氧的结合、运输和供应能力,有利于在高强度竞技时改善缺氧状态,促进肌肉中氧生成,使肌肉更加有力、工作时间更长,因此 rhEPO 被某些耐力项目(如长跑、自行车、游泳、皮划艇等)的运动员滥用借以提高体能。但长期使用 rhEPO 会导致红细胞含量急剧上升,造成血液流动变缓,凝血加快,增加了静脉血栓、肺栓塞、肌肉感染、中风以及高血压、癫痫的突发几率。20 世纪 90 年代以来,自行车等耐力项目赛场上运动员的突然死亡事件不断增多,怀疑与 rhEPO 的滥用有关。

1997 年 Svensson 等<sup>[3]</sup>将 EPO 基因通过病毒带进老鼠和猴子的细胞中,在这些动物体内所产生的 EPO 使得其血液中血红蛋白水平由 49% 增加到 81%,并且其表达水平在猴子体内保持了 12 周,老鼠体内保持了 1 年。此后各种相关报道不断出现,虽然这些研究主要是用于基因治疗的目的,但所得结果也许会成为健康的职业运动员提高运动成绩的手段。

## 1 有可能被滥用的基因及其滥用方法

随着基因治疗技术的不断完善,基因兴奋剂的使用已经成为可能。与基因治疗所不同的是,基因兴奋剂服务的对象已经由患者转为健康的运动员。按照兴奋剂专家的估计,近几年内最有可能成为基因兴奋剂的基因如下:

### 1.2 hGH 基因

生长激素(GH)是一种单链多肽激素,由垂体前叶后外侧的特异分泌细胞分泌。它由 191 个氨基酸组成, $M_r$  为 21 700,等电点(pI)为 4.9,在 53 位与 165 位和 182 位与 189 位半胱氨酸残基间由二硫键相连<sup>[13]</sup>。生长激素是主控生长发育、免疫力和新陈代谢的重要荷尔蒙,它能够促进肌肉的生长,并且加速脂肪的燃烧。运动员非法使用生长激素主要是为了强壮肌肉、增加力量,以便获取竞技优势。成人过量使用会引发冠状动脉心脏病和外周神经系统疾病,并且所引起的心血管和骨骼肌病症可能是不可逆的。外源性生长激素的过量使用,还可引起人体产生对生长激素的抗体反应,从而影响内源性生长激素的活性及导致激素分泌紊乱。

Voutetakis 等<sup>[9]</sup>以 2 型腺相关病毒(AAV2)作为载体,将 GH 基因植入老鼠唾液腺体中,发现老鼠腺体中 GH 的含量增加至(1 084 ± 102) pg/mL,血清中 GH 含量增加至(151.5 ± 17.3) pg/mL,在植入基因的 4 周内能保持表达水平。

### 1.3 IGF-I 基因

Sweeney 等<sup>[7,14]</sup>选择了转基因技术中常用的腺相关病毒(AAV)作为载体,使其携带只在骨骼肌中产生 IGF-I 的合成基因。若将 AAV-IGF-I 注入幼年小鼠的肌肉后,其肌力增强了 15% ~ 30%,即使在不运动的小鼠中也能达到如此效果;而中年小鼠在注射 AAV-IGF-I 后,年老时肌力不再衰退。研究中将 AAV-IGF-I 注入大鼠的一条腿,然后让这些大鼠接受为期 8 周的重量训练。结果显示,在训练结束后,治疗腿的肌力是同一动物对照腿的近 2 倍;而在停止训练后,治疗腿的肌力丧失速度也比对照腿慢得多。即使在不运动的大鼠中,AAV-IGF-I 的注入也能使肌力增强 15%,与小鼠实验中所观察到的结果相似。Sweeney 等还计划在犬类中继续 AAV-IGF-I

基因治疗的研究。

### 1.4 PPAR $\delta$ 基因

Wang 等<sup>[10]</sup>将 PPAR  $\delta$  基因植入小鼠受精卵, 结果发现接受试验的小鼠骨骼肌中慢收缩纤维的比例大大增加, 而快收缩纤维的比例则下降。和快收缩纤维相比, 慢收缩纤维含有较多的线粒体, 因而后者将脂肪转化成能量的有氧代谢水平高, 不宜积累无氧代谢的副产物乳酸, 因而有更强的运动疲劳抗性。这类改造过的小鼠能够在小鼠跑步机上比正常小鼠跑步时间增加 67%、跑步距离增加 92% 才会疲劳。而且这类小鼠脂肪代谢能力强, 即使吃高脂肪高热量的食物也不会长胖。

### 1.5 Myostatin 基因

Myostatin 基因又称 GDF-8 ( growth differentiation factor 8 )。1999 年有人发现从老鼠体内将 Myostatin 基因移去后, 老鼠的肌肉变得更发达, 力量也更强<sup>[11]</sup>。Myostatin 基因在骨骼肌中广泛表达, 在小鼠骨骼肌中, 其表达的增加与肌肉量的减少相关, 并导致肌纤维大小、肌核数、心肌量降低以及脂肪量增加。

### 1.6 基因诱导缺氧因子

分子内氧含量的下降通过一系列信号转导激活了对缺氧敏感的缺氧诱导因子( hypoxia-inducible transcription factor, HIF1 ), 再通过一个复杂的机制, 最后导致了生理学上与缺氧相关的基因的数目不断上调。研究者发现通过敲除能将有氧代谢转成无氧代谢所需要的基因缺氧诱导因子 HIF1 $\alpha$ , 可获得长跑健将小鼠<sup>[15]</sup>。不过, 这类小鼠如果过分锻炼, 有氧代谢的副产物( 如自由基 )会过份积累而破坏肌肉组织。

除了这几个最可能被滥用的基因兴奋剂外, 根据基因图谱, 有潜在可能起到兴奋剂作用的基因还有很多, 2000 年科学家发现了 29 个与运动相关的基因, 到 2001 年底已经达到 71 个<sup>[16]</sup>。据估计, 这个数据将不断增长。

## 2 基因表达产物的检测

基因植入体内后将在体内表达, 研究基因在不同细胞系中表达的差异对基因兴奋剂的检测有很大的帮助。同时, 对基因兴奋剂的检测也需要从基因表达后的产物——蛋白的研究和检测入手。本文在此介绍 EPO 和 hGH 两种较多地被滥用的蛋白的检测进展。

### 2.1 EPO 的检测

有研究表明, 由于 EPO 基因表达的细胞系和生理环境的不同, 内源性 EPO 与 rhEPO 有不同的糖

型, rhEPO 比天然 EPO 含有更多的三天线及四天线低聚糖, 并且 EPO 与 rhEPO 二者在唾液酸化程度上有明显的差别<sup>[12]</sup>。

检测 rhEPO 采用间接法和直接法两种策略。直接法是对 EPO 进行直接的测定。2000 年法国国家反兴奋剂实验室的 Lasne 等<sup>[17]</sup>采用等电聚焦-免疫双印迹-化学发光检测, 利用 rhEPO 与内源 EPO 在电荷上的差别研究证实 rhEPO 在等电聚焦电泳中会出现附加的碱性区带, 而内源 EPO 则没有。所以只要将检测者尿中 EPO 检测图与正常内源 EPO 的检测图相比较, 便能作出判断。如图 1 所示, a 为人尿中提取的 EPO, b 为 EPO- $\beta$ , c 为 EPO- $\alpha$ , d 为未使用 rhEPO 的样本, e 和 f 为服用 rhEPO 的两位贫血病人的尿样, g 和 h 为 1998 年环法自行车赛两位车手的尿样。2000 年悉尼奥运会开始用 Lasne 方法进行运动员尿样的检测<sup>[11]</sup>。

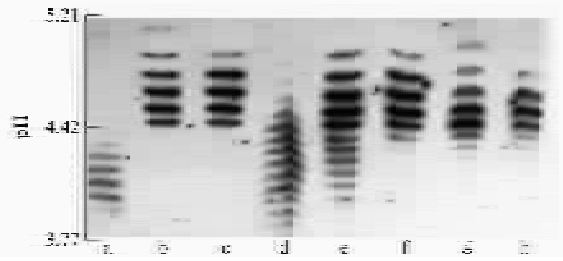


图 1 EPO 样品的等电聚焦检测图<sup>[17]</sup>  
Fig. 1 Autoradiograph of isoelectric patterns of exogenous and endogenous EPO<sup>[17]</sup>

Images were obtained by chemiluminescent immunodetection of blotted EPO after isoelectric focusing. a. purified commercial human urinary natural EPO ( Sigma ); b. recombinant EPO- $\beta$  ( Neorecormon, France ); c. recombinant EPO- $\alpha$  ( Eprex, France ); d. urine sample from a control subject ; e, f. urine samples from two patients treated with Neorecormon for post-haemorrhagic anaemia ; g, h. urine samples from two cyclists from Tour de France 1998 ( samples concentrated by ultrafiltration ).

Frutos 等<sup>[18]</sup>采用毛细管区带电泳( CZE )技术以三( 羟甲基 )甲基甘氨酸、丁二胺、氯化钠、醋酸钠、尿素组成的背景缓冲液分离并测定尿样中 EPO 和 rhEPO 的不同糖型, 发现 rhEPO 比天然 EPO 保留时间长, 显示了 CZE 技术测定 rhEPO 滥用的可能性。

电泳方法的重现性和检测灵敏度不高, 如能与质谱等高灵敏度检测设备联用将会是一个有效的检测手段, 但电泳的高盐条件又限制了其与质谱的联用。Lasne 方法虽已成为 WADA 指定的方法, 但 180 多步的样品处理过程, 72 h 的分析时间使检测过程耗时费事, 对检验员的实验技巧的要求也很高; 而且所有这些还都有产生检测假阳性的可能<sup>[19]</sup>。针对 EPO 检测时间过长的缺陷, 我们<sup>[20]</sup>提出了用

于建立 EPO 糖型指纹谱的快速高分辨毛细管等电聚焦-全柱成像检测(CIEF-WCID)法,采用该法分离 rhEPO 仅需 5 min,可以作为 EPO 兴奋剂检测的一个潜在方法。

间接法是测定数个可用于共同判断滥用 rhEPO 的综合指标<sup>[21-23]</sup>:红细胞压积(Hct)、网织红细胞(reticulocytes)百分数、巨红细胞(macrococytes)百分数、EPO 含量、血红蛋白浓度(Hb)和可溶转铁蛋白(sTfr)含量。采用“ON”模式和“OFF”模式进行判定。“ON”模式应用于正在使用或刚结束使用 rhEPO 的运动员的血样;“OFF”模式应用于几周前使用 rhEPO 的运动员的血样。“ON”值等于血红蛋白浓度与 9.74 乘以 EPO 含量的对数值之和;或者等于血红蛋白浓度、6.62 乘以 EPO 含量的对数值、19.4 乘以 sTfr 含量的对数值三者之和。“OFF”值等于血红蛋白浓度与 60 乘以网织红细胞百分数的平方根之差;或者等于血红蛋白浓度、50 乘以网织红细胞百分数的平方根、7 乘以 EPO 含量的对数值三者之差<sup>[22]</sup>。这种处理方法是基于一定数量的标样和试样实测结果的统计平均值,是一种经验的定性判别法。

2000 年悉尼奥运会采用直接法与间接法结合的模式对运动员使用 rhEPO 的情况进行检测。首先利用血检进行粗筛,借助 5 项指标取得一个“ON”值和“OFF”值,将其与正常值比较,挑出可疑者,然后将可疑者的尿样进行等电聚焦,实施直接检测。“ON”值超过限值的同时 IEF 结果显示 rhEPO 区带占绝大多数者,则判为阳性样品;“OFF”值超过限值或血检和尿检两者之一为阳性,则判为可疑样品<sup>[23]</sup>。

## 2.2 hGH 的检测

血清中的 GH 以多种不同的  $M_r$  存在,如  $M_r$  为 22 000、20 000 和 17 500 等。这些不同  $M_r$  的 GH 在血中又分为游离型、蛋白结合型以及一小部分二聚体形式存在。GH 在血中的半衰期为 15 min 左右,经过体内代谢后随尿排出,但尿中 GH 含量极低,约为血中含量的 0.01%。由于个体的 GH 水平差异大,在同一个体内还存在随时间不同的间歇性分泌,因此不能单纯地以测得的血中 GH 的含量作为判断是否滥用 GH 的依据。

因为 hGH 在体内有代谢快、半衰期短、含量极微和排泄量少等特点,使得寻找一种理想的、能判断是否滥用了 hGH 的检测方法十分困难。目前测定 hGH 的常用方法有放射免疫测定法(RIA)、酶联免疫测定法(ELISA)和时间分辨荧光免疫分析法(TRIFMA)等<sup>[24]</sup>。

RIA 法的测定原理是 GH 抗原与定量同位素标记抗原一起与限量专一抗体发生竞争性结合,反应平衡后,测沉淀物中放射性计数(cpm),根据标准曲线计算出未知样品的含量。ELISA 法是针对 hGH 不同抗原决定簇的两株单克隆抗体,建立双抗体夹心 ELISA 法测定血清中的 hGH。TRIFMA 法的测定原理是用鼠抗 hGH 单克隆抗体(mAb)包被固相载体,加入 hGH 标准液或待测样品(抗原)与固相载体结合,洗去无关成分后,加入铕( $\text{Eu}^{3+}$ )标记的鼠抗 hGH mAb,反应后洗去无关成分,加入荧光增强液,最后凭测得的荧光强度与 GH 抗原浓度呈正比关系,确定 GH 抗原的含量。检测竞技体育项目中的运动员是否滥用重组人生长激素(rhGH)也有直接法和间接法两种方法。直接法是测定体内各种 GH 形态的比例。由于 rhGH 的  $M_r$  均为 22 000<sup>[25]</sup>,使用 rhGH 将抑制其他形态 GH 的分泌,因此  $M_r$  为 22 000 的 GH 在总 GH 中丰度如果大幅度提高,即显示 rhGH 滥用<sup>[26-27]</sup>。间接法是进行药理学检测<sup>[28-31]</sup>。正常人的血清中 IGF-I 和胰岛素样生长因子结合蛋白(IGFBPs)的浓度远远高于 hGH 的浓度,如果正常人使用了 hGH,则会使血清中 IGF-I 和 IGFBPs 增高,而且这一作用在 hGH 作用消失后还将延续一段时间,这是因为 IGF-I 和 IGFBPs 的合成和代谢清除都比较缓慢,IGF-I 的半衰期为 89.5 h<sup>[27]</sup>,因此可以用测定 IGF-I 与 hGH 浓度的比值来间接地判断 hGH 在血浆中含量的变化,从而推测是否滥用了 hGH。部分科学研究已经根据不同年龄段确定了血清中 IGF-I 的限量值<sup>[32]</sup>。WADA 在 2004 年希腊雅典奥运会上开始用两种方法结合的模式检测 rhGH 的滥用<sup>[1]</sup>。

## 3 基因兴奋剂检测的策略

由于基因兴奋剂都是以基因的形式注入或载入体内,给检测带来很大的难度。一个原因是基因表达产物与内源性产物结构十分相似,因此难以区分内源还是外源蛋白;另一个重要原因是部分基因兴奋剂表达后的蛋白只存在于肌肉中,不在血液和尿液中出现,而对运动员进行肌肉取样是不现实的。虽然基因兴奋剂的检测目前还相当困难,但是已经有以下几种可行的应对策略。

### 3.1 直接检测表达产物

基于上述对重组蛋白检测所取得的成果,同时由于基因在不同组织内表达的蛋白可能在结构上存在细微的差别,研究者就可以直接检测基因在生物体内的表达产物以期达到检测基因兴奋剂的目的。Lasne 等<sup>[33]</sup>将 EPO 基因转移至猴子骨骼肌中,通

过等电聚焦电泳方法测定血液中 EPO ,发现基因表达后的 EPO 与内源性 EPO 在糖型上有明显的不同。基于表达产物糖型的不同 ,可以实现对 EPO 基因兴奋剂的检测。

### 3.2 对病毒免疫反应的检测

基因工程中常用病毒作为载体进行基因转移 ,而直接对转移基因进行检测非常困难。利用病毒进入体内后将引起人体正常的免疫反应 ,通过测定免疫反应后人体的变化来确定是否滥用这类药物将是一种有效的方法 ;但是需要大量的试验结果做技术支持 ;同时如果运动员在正常情况下受到感染 ,体内也能出现免疫反应<sup>[34]</sup>。

### 3.3 脱氧核糖核酸(DNA)微阵列和蛋白质组分析

体内引入外源基因后将引起内源基因表达谱的改变。DNA 微阵列是高通量、微型化、自动化研究生物大分子功能的技术 ,已广泛应用于动植物生物学过程的基因表达研究 ,通过 DNA 微阵列可以测定内源基因组在引入外源基因后表达谱的差异。同时对运动员进行蛋白质组分析也是一种可行的方法。这种检测方法遇到的最大困难是标准数据库的建立和正常值的确定问题 ,需要做大量的试验<sup>[2]</sup>。

### 3.4 DNA 条码技术

DNA 条码技术可用于农作物转基因的检测 ,每个公司生产的转基因可以设立不同的条码 ,只要通过聚合酶链反应(PCR)扩增就可以确定作物是否存在转基因成分。这种检测方法可以用于基因兴奋剂的检测 ,但最大的阻力来自于生产转基因的公司是否愿意将商业机密公布于众<sup>[34]</sup>。

### 3.5 磁共振成像

一个独特的策略是采用成像技术 ,如磁共振成像技术扫描运动员身体以搜索基因表达不正常的部位<sup>[35]</sup>。

## 4 结论与展望

随着基因重组技术的不断发展 ,外源性蛋白的质量会不断提高并将和体内产生的蛋白质性质越来越接近 ,未来的检测难度将不断增加。同时科技的发展将使基因兴奋剂滥用的手段越来越隐蔽 ,取样的难度也逐步增加。基因兴奋剂的检测不仅技术上难度较大 ,它还是一个需要巨大投入的检测项目 ,需要各个国家、实验室和运动员的密切配合。WADA 已将重组蛋白和基因兴奋剂的检测作为今后的工作重点 ,WADA 相信基因兴奋剂的检测是可能和可行的<sup>[35]</sup>。兴奋剂检测与兴奋剂滥用犹如“警察”与“小偷”的较量 ,尽管不同的案例破案的策略可能不同 ,但是作案者留下的任何蛛丝马迹都有可能作为

破案的突破口。同时 ,一个很好的威慑手段就是延长运动员尿样和血样的保存时间 ,目前检测不出的兴奋剂以后可以检测出来。而不管是什么时候检查出来 ,都依然有效。目前运动员的尿样和血样会被保存 8 年 ,在 8 年之内 ,随时都可以再检查。此外 ,兴奋剂不仅是一个体育与科学问题 ,还是一个文化与道德问题。公众对英雄的崇拜固然可以驱使少数人铤而走险 ,但无疑只有那些具有杰出的先天禀赋和后天勤奋与敬业精神的运动员才有资格成为真正的英雄与榜样 ,公众对作弊者的唾弃将对作弊者起到心理威慑作用 :一旦被发现有身败名裂 ,一辈子背上骗子的污名。因此 ,对公众和运动员的教育与引导可以预防兴奋剂的滥用。

### 参考文献 :

- [1] World Anti-doping Agency. The 2008 prohibited list. (2007-09-22). [http://www.wada-ama.org/rtecontent/document/2008\\_List\\_En.pdf](http://www.wada-ama.org/rtecontent/document/2008_List_En.pdf)
- [2] Azzazy H M E, Mansour M M H. *Analyst*, 2007, 132: 951
- [3] Svensson E C, Black H B, Dugger D L, et al. *Hum Gene Ther*, 1997, 8: 1797
- [4] Zhou S, Murphy J E, Escobedo J A, et al. *Gene Ther*, 1998, 5: 665
- [5] Chenuaud P, Larchet T, Rabinowitz J E, et al. *Blood*, 2004, 103: 3303
- [6] Sebestyen M G, Hegge J O, Noble M A, et al. *Hum Gene Ther*, 2007, 18: 269
- [7] Lee S, Barton E R, Sweeney H L, et al. *J Appl Physiol*, 2004, 96: 1097
- [8] de Francesco L. *Nat Biotechnol*, 2004, 22: 1069
- [9] Voutetakis A, Bossis I, Kok M R, et al. *J Endocrinol*, 2005, 185: 363
- [10] Wang Y X, Zhang C L, Yu R T, et al. *PLoS Biol*, 2004, 2: e294
- [11] Whittmore L A, Song K, Li X, et al. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 300: 965
- [12] Takeuchi M, Kobata A. *Glycobiology*, 1991, 1: 337
- [13] Mario T, Wilhelm S. *Current Proteomics*, 2005, 2: 191
- [14] Barton-Davis E R, Shoturma D I, Musaro A, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 15603
- [15] Lippi G, Guidi G C. *Br J Sports Med*, 2004, 38: 641
- [16] Rankinen T, Perusse L, Rauramaa R. *Med Sci Sports Exerc*, 2002, 34: 1219
- [17] Lasne F, de Ceaurriz J. *Nature*, 2000, 405: 635
- [18] Frutos M, Cifuentes A, Diez-Masa J C. *Electrophoresis*, 2003, 24: 678
- [19] Franke W W, Heid H. *Clin Chim Acta*, 2006, 373: 189
- [20] Dou P, Liu Z, He J G, et al. *J Chromatogr A*, 2008, 1190: 372
- [21] Parisotto R, Ashenden M J, Gore C J, et al. *Haematologica*, 2003, 88: 931
- [22] Parisotto R, Gore C J, Emslie K R, et al. *Haematologica*, 2000, 85: 564
- [23] Kazlauskas R, Howe C, Trout G. *Clin J Sport Med*, 2002,

- 12 :229
- [ 24 ] Thomer M O , Smith R G. Human growth hormone : research and clinical practice. Totowa : Humana Press , 2000
- [ 25 ] Bidlingmaier M , Wu Z , Strasburger C J. J Endocrinol Invest , 2003 , 26 : 924
- [ 26 ] Saugy M , Robinson N , Saudan C , et al. Br J Sports Med , 2006 , 40 : 35
- [ 27 ] McHugh C M , Park R T , Sonksen P H , et al. Clin Chem , 2005 , 51 : 1 587
- [ 28 ] Knies A , Ziegler E , Kratzsch J , et al. Anal Bioanal Chem , 2003 , 376 : 696
- [ 29 ] Palo E F , Gatti R , Lancerin F , et al. Clin Chim Acta , 2001 , 305 : 1
- [ 30 ] Juul A , Dalgaard P , Blum W F , et al. J Clin Endocrinol Metab , 1995 , 80 : 2 534
- [ 31 ] Kraemer W J , Aguilera B A , Terada M , et al. J Appl Physiol , 1995 , 79 : 1 310
- [ 32 ] Sartorio A , Agosti F , Marazzi N , et al. Clin Endocrinol , 2004 , 61 : 487
- [ 33 ] Lasne F , Martin L , de Ceaurriz J , et al. Mol Ther , 2004 , 10 : 409
- [ 34 ] Hassan M E A , Mai M H M , Robert H C. Clin Biochem , 2005 , 38 : 959
- [ 35 ] Play True : An Official Publication of the World Anti-Doping Agency , Issue 1-2005

## 慕尼黑上海分析生化展 analytica China 2008 会议通知

### ◆第四届上海国际分析化学研讨会

主办单位：中国化学会、德国慕尼黑国际博览集团

会议主席：Antonius Kettrup 教授(德国 Technische Universitat München)

汪尔康院士(中国科学院长春应用化学研究所) 张玉奎院士(中国科学院大连化学物理研究所)

报告人：汪尔康(中科院院士,中国科学院长春应用化学研究所) 张玉奎(中科院院士,中国科学院大连化学物理研究所)

陈洪渊(中科院院士,南京大学)

姚守拙(中科院院士,湖南大学)

俞汝勤(中科院院士,湖南大学)

Elke Anklam 教授(健康和消费者保护协会)

Albert Sickmann 教授(德国维尔茨堡大学)

Gerhard Schratt 教授(德国海德堡大学)

论题：分析质量控制、质谱、实验室策略和组织、电解析/传感器、环境分析、食品及中药材检测、蛋白质组学、代谢组学

### ◆设备验证和实验室体系认证中国研讨会

主办单位：德国慕尼黑国际博览集团

演讲嘉宾：Ludwig Huber 博士( Labcompliance 全球 FDA 法规管理处主席、安捷伦科技有限公司首席执行官顾问)

9月24日：认证概况和法规简介

9月25日：分析仪器认证和计算机体系认证

· FDA 和其他认证规范

· 分析仪器验证

· ISO 17025 要求(更新)

· 了解和执行新美国药典第 1058 章(分析仪器验证)

· 实验室认证计划

· 设备验证周期 4Q 检测体系

· 抽样 抽样计划、典型抽样、文件

· 验证阶段：设计、安装验证、操作验证和工艺验证

· 样品处理：维护保养、防止损失和损坏

· 系统适应性测试：类型、频率和验收标准

· 分析方法认证：内部方法、简明方法、方法转换

· 软件和计算机体系的认证

· 稳定性指示法的发展和认证

· 基于风险的认证和测试

· 失败分析和偏差分析结果

· Excel 电子制表软件的认证

· 实验结果的报告、评审、批准

· 变更控制步骤：计划中和计划外的变更

· 化学药品和参考材料的处理

· 计算机系统的再认证

· ISO 和 FDA 文件

· 原始数据及其他文件的定义和处理

· 根据 CFR Part 11 的规定,电子文件的获取、评估和存档

### ◆展商技术交流会

主办单位：德国慕尼黑国际博览集团

主要论题：· 环境保护 · 食品安全 · 检验检疫 · 电子生产 · 药物及天然产物 · 其他新产品及新技术

发言嘉宾来自于 Thermo Fisher , PerkinElmer , Sigma-Aldrich , Buchi 等企业。