

人类 EGFR 基因突变体质控品的建立*

黄杰¹, 曲守方¹, 徐任², 徐超¹, 高尚先^{1**}

(1. 中国食品药品检定研究院体外诊断试剂与培养基室, 北京 100050; 2. 长春理工大学, 长春 130022)

摘要 目的: 构建了 29 种人类 EGFR 基因突变体质控品, 为人类 EGFR 基因突变检测试剂盒的性能评价提供了可靠的质控物质。方法: 根据人类 EGFR 全基因序列, 应用 Primer Premier 5.0 软件在选取的序列区域设计引物, 通过 PCR 介导的定点突变技术引入突变位点, PCR 产物与克隆载体连接, 转化感受态细菌, 筛选阳性克隆等, 建立了包含不同人类 EGFR 基因突变体的质控品。结果: 对 29 种人类 EGFR 基因突变体质控品进行序列测定, 并将测序结果进行 BLAST 比对, 结果表明成功建立了人类 EGFR 基因突变体质控品。结论: 本研究建立的 EGFR 基因突变体质控品涵盖了 EGFR 基因的 29 种突变位点, 覆盖了目前最常见的 EGFR 基因突变类型, 能够用于评价国内大多数 EGFR 基因突变检测试剂盒。

关键词: 人类表皮生长因子受体(EGFR); 基因突变; 质控品; PCR

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793(2011)09 - 1758 - 06

Establishment of human EGFR gene mutation control materials*

HUANG Jie¹, QU Shou - fang¹, XU Ren², XU Chao¹, GAO Shang - xian^{1**}

(1. Department of In Vitro Diagnostic Reagents & Medium, National Institute for Food and Drug Control, Beijing 100050, China; 2. Changchun University of Science and Technology, Changchun 130022, China)

Abstract Objective: To establish the control materials for human EGFR gene mutation including 29 different kinds for the quality control of EGFR gene mutation detection kits. **Methods:** According the EGFR gene sequence (including exons and introns), designed the primers in the selected sequence region with primer primer 5.0 software. Then introduced mutations by PCR - mediated site - directed mutagenesis, ligated PCR products into the cloning vector, transformed into DH5α, and screened the positive clones by blue/white selection. Then constructed the control materials for EGFR gene mutation. **Results:** The control materials for human EGFR gene mutation were successfully established by sequencing the 29 recombinant plasmids. **Conclusion:** The control materials included 29 kinds of mutation sites, covering all the most common mutation. The control materials would satisfy the evaluation of EGFR gene mutation kits.

Key words: EGFR; gene mutation; control materials; PCR

人类表皮生长因子受体(EGFR)是一种具有蛋白酪氨酸激酶活性的膜表面受体(RTK),由 28 个外显子组成,编码 1186 个氨基酸^[1],位于人类染色体 7p13 - q22 区。EGFR 介导的信号通路在细胞增殖、分化、迁移和生存等生理过程发挥着十分重要的作用。EGFR 等蛋白酪氨酸激酶功能缺失或其相关信号通路中关键因子的活性或细胞定位异常,可以引起肿瘤、免疫缺陷及心血管等疾病。研究表明在许多恶性肿瘤中存在 EGFR 的高表达或异常表达^[2]。

如:非小细胞肺癌^[3]、恶性胶质瘤、肾癌等。EGFR 的异常表达导致肿瘤发生的机制可能有:EGFR 的高表达引起下游信号传导的增强;突变型 EGFR 受体或配体表达的增加导致 EGFR 的持续活化;自分泌环的作用增强;受体下调机制的破坏;异常信号传导通路的激活等^[4]。

对非小细胞肺癌(NSCLC)而言,易瑞沙(Iressa)是目前较为有效的治疗药物。它是一种分子靶向治疗肺癌的药物,是表皮生长因子受体酪氨酸酶

* 中国食品药品检定研究院中青年发展研究基金,项目编号 2010C7
** 通讯作者 Tel: (010) 67095647; E - mail: gaoshangxian@126. cm

抑制剂(TKI)通过阻断 EGFR-TK 及其信号通路抑制肿瘤细胞的形成并促进肿瘤细胞的凋亡。然而,EGFR 基因突变与肺癌病人对此药的敏感性有关,因此如何选择治疗对象合理用药是当前普遍关注的一个问题^[5]。对于患者 EGFR 突变点的检测将有助于辅助临床筛选出合适癌症患者进行个性化的特罗凯和易瑞沙等药物的靶向治疗,从而为肿瘤患者的个体用药提供科学依据,同时显著提高靶向药物的疗效^[6]。

目前由于 PCR 技术的应用,基因突变检测主要以分析 DNA 变异的直接检测为主。在研究工作中采用的技术有实时荧光 PCR 熔解曲线法、扩增阻滞突变系统及等位特异 PCR、单链构象异构多态分析技术、变性高效液相色谱分析、等位基因特异性寡核苷酸杂交、测序、引物延伸质谱法等。目前国内尚未建立人类 EGFR 基因突变体质控品,对各种检测方法和检测试剂盒进行有效的评价。本研究建立了包含 29 种人类 EGFR 基因突变体质控品,为 EGFR 基因突变检测试剂盒评价和临床实验室质量评价提供了质控物质,具有十分重要的应用价值。

1 材料与与方法

1.1 材料 TaKaRa Ex Taq 酶、dNTP mix、DNA 电泳 Marker DL2000、TA 克隆试剂盒(pMD19-T simple vector)为宝生物工程(大连)有限公司产品,质粒(小量)抽提试剂盒、质粒(中量)抽提试剂盒及 PCR 产物胶回收试剂盒为 Axygen Scientific 公司产品,血液基因组 DNA 提取试剂盒为天根生化科技(北京)有限公司产品。

1.2 方法

1.2.1 突变体构建原理 ①用 2 对引物分别扩增目的片段,引物 a 和 b 扩增产物 AB 部分,引物 c 和 d 扩增产物 CD 部分,其中引物 b、c 为互补序列且涵盖目的突变位点;②产物 AB 和产物 CD 互为引物和模板,进行扩增,得到产物 AD,AD 序列即为包含突变位点的目的序列,见图 1。

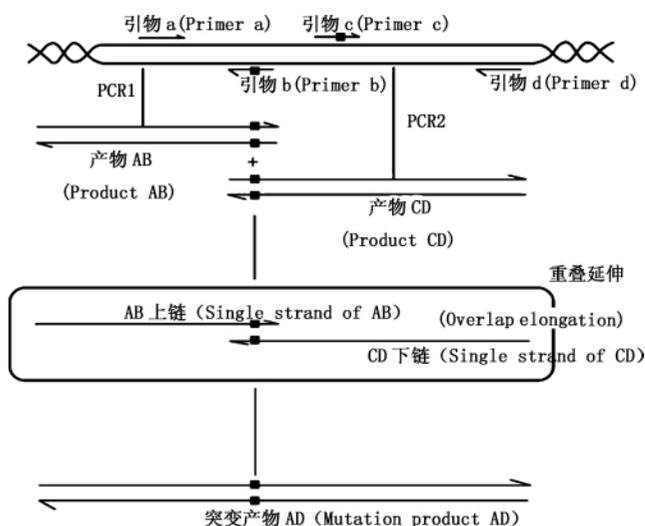


图 1 突变体构建原理图

Fig 1 The schematic of mutation

1.2.2 引物设计 根据 NCBI 数据库中人类 EGFR 基因序列,使用 Primer Primer 5.0 软件在选取的序列区域设计相关引物,由上海生工生物工程技术有限公司进行合成。29 种突变位点见表 1。

表 1 人类 EGFR 基因常见的 29 种突变位点

Tab 1 29 common EGFR gene mutations

名称 (name)	外显子 (exon)	氨基酸突变类型 (amino acid mutation)	碱基突变类型 (base mutation)
甘氨酸 719 丙氨酸 (G 719 A)	18	甘氨酸 719 丙氨酸(G 719 A)	2156 鸟嘌呤 > 胞嘧啶(2156 G > C)
甘氨酸 719 丝氨酸 (G 719 S)	18	甘氨酸 719 丝氨酸(G 719 S)	2155 鸟嘌呤 > 腺嘌呤(2155 G > A)
甘氨酸 719 半胱氨酸 (G 719 C)	18	甘氨酸 719 半胱氨酸(G 719 C)	2155 鸟嘌呤 > 胸腺嘧啶(2155 G > T)
缺失 1(Del 1)	19	谷氨酸 747 - 丙氨酸 750 缺失(1) [E 747 - A 750 del(1)]	2235 - 2249 缺失 15 个碱基(2235 - 2249 del 15)
缺失 2(Del 2)	19	谷氨酸 747 - 丙氨酸 750 缺失(1) [E 747 - A 750 del(1)]	2236 - 2250 缺失 15 个碱基(2236 - 2250 del 15)
缺失 3(Del 3)	19	谷氨酸 746_苏氨酸 751 缺失(E 746_T 751 del)	2236_2253 缺失 18 个碱基(2236_2253 del 18)
缺失 4(Del 4)	19	谷氨酸 746_苏氨酸 751 > 丙氨酸(E 746_T 751 > A)	2237_2251 缺失 15 个碱基(2237_2251 del 15)
缺失 5(Del 5)	19	谷氨酸 746_丝氨酸 752 > 丙氨酸(E 746_S 752 > A)	2237_2254 缺失 18 个碱基(2237_2254 del 18)

续表 1

名称 (name)	外显子 (exon)	氨基酸突变类型 (amino acidmutation)	碱基突变类型 (basemutation)
缺失 6(Del 6)	19	谷氨酸 746_丝氨酸 754 > 天冬氨酸(E 746_S 752 > D)	2238_2255 缺失 18 个碱基(2238_2255 del 18)
缺失 7(Del 7)	19	亮氨酸 747_谷氨酸 749 缺失(L 747_E 749 del)	2239_2247 缺失 9 个碱基(2239_2247 del 9)
缺失 8(Del 8)	19	亮氨酸 747_苏氨酸 751 缺失(L 747_T 751 del)	2239_2253 缺失 15 个碱基(2239_2253 del 15)
缺失 9(Del 9)	19	亮氨酸 747_丝氨酸 752 缺失(L 747_S 752 del)	2239_2256 缺失 18 个碱基(2239_2256 del 18)
缺失 10(Del 10)	19	亮氨酸 747_苏氨酸 751 > 丝氨酸(L 747_T 751 > S)	2240_2251 缺失 12 个碱基(2240_2251 del 12)
缺失 11(Del 11)	19	亮氨酸 747_苏氨酸 751 缺失(L 747_T 751 del)	2240_2254 缺失 15 个碱基(2240_2254 del 15)
缺失 12(Del 12)	19	亮氨酸 747_脯氨酸 753 > 丝氨酸(L 747_P 753 > S)	2240_2257 缺失 18 个碱基(2240_2257 del 18)
缺失 13(Del 13)	19	谷氨酸 746_苏氨酸 751 > 异亮氨酸(E 746_T 751 > I)	2235_2252 > AAT(复合体 [2235_2252 > AAT(complex)]
缺失 14(Del 14)	19	谷氨酸 746_丝氨酸 752 > 缬氨酸(E 746_S 752 > V)	2237_2250T(复合体 [2237_2250 > T(complex)]
缺失 15(Del 15)	19	亮氨酸 747_丙氨酸 750 > 脯氨酸(L 747_A 750 > P)	2238_2248 > GC(复合体 [2238_2248 > GC(complex)]
缺失 16(Del 16)	19	亮氨酸 747_苏氨酸 751 > 谷氨酰胺(L 747_T 751 > Q)	2238_2252 > GC(复合体 [2238_2252 > GCA(complex)]
缺失 17(Del 17)	19	亮氨酸 747_丙氨酸 750 > 脯氨酸(L 747_A 750 > P)	2239_2248 TTAAGAGAAG > C (复合体 [2239_2248 TTAAGAGAAG > C(complex)]
缺失 18(Del 18)	19	亮氨酸 747_苏氨酸 751 > 脯氨酸(L 747_T 751 > P)	(2239_2251 > C(复合体) [2239_2251 > C(complex)]
缺失 19(Del 19)	19	亮氨酸 747_脯氨酸 753 > 谷氨酰胺(L 747_P 753 > Q)	2239_2258CA(复合体 [2239_2258 > CA(complex)]
苏氨酸 790 蛋氨酸(T 790 M)	20	苏氨酸 790 蛋氨酸(T 790 M)	2369 胞嘧啶 > 胸腺嘧啶(2369 C > T)
丝氨酸 768 异亮氨酸(S 768 I)	20	丝氨酸 768 异亮氨酸(S 768 I)	2303 鸟嘌呤 > 胸腺嘧啶(2303 G > T)
插入 1(Ins 1)	20	缬氨酸 769_天冬氨酸 770 插入丙氨酸、 丝氨酸、缬氨酸(V 769_D 770 ins ASV)	2307_2308 插入 GCCAGCGTG 序列(2307_2308 ins GCCAGCGTG)
插入 2(Ins 2)	20	组氨酸 773_缬氨酸 774 插入组氨酸(H 773_V 774 ins H)	2319_2320 插入 CAC(2319_2320 ins CAC)
插入 3(Ins 3)	20	天冬氨酸 770_天冬酰胺 771 插入甘氨酸(D 770_N 771 ins G)	2310_2311 插入 GGT(2310_2311 ins GGT)
亮氨酸 858 精氨酸(L 858 R)	21	亮氨酸 858 精氨酸(L 858 R)	2573 胸腺嘧啶 > 鸟嘌呤(2573 T > G)
亮氨酸 861 谷氨酰胺(L 861 Q)	21	亮氨酸 861 谷氨酰胺(L 861 Q)	2582 胸腺嘧啶 > 腺嘌呤(2582 T > A)

1.2.3 PCR 扩增和 PCR 产物回收 ①根据所设计引物对人类全基因组 DNA 进行第 1 轮 PCR 扩增,针对每个突变位点扩增出 2 个片段,进行 1% 凝胶电泳,使用 AXYGEN 胶回收试剂盒回收 PCR 产物;②针对每个突变位点,以第 1 轮回回收的 2 个片段分别互为模板进行第 2 轮 PCR 扩增,将获得的 PCR 产物进行 1% 凝胶电泳,回收第 2 轮 PCR 产物。

1.2.4 TA 克隆构建和转化 按照试剂盒说明,将获得的 PCR 产物连接到 pMD19-T 载体,然后转化感受态细菌 DH5 α 。将其涂在含 Amp、X-gal 和

IPTG 的 LB 平板上。37 °C 倒置培养 14 ~ 18 h。根据蓝白斑进行筛选,白色者即为阳性克隆,挑选单克隆。

1.2.5 重组质粒 PCR 鉴定和序列测定 将单克隆菌落接种至 LB 培养基,37 °C 摇床振荡培养过夜。然后小量抽提与纯化重组质粒 DNA。首先进行 PCR 方法鉴定,将经 PCR 鉴定为阳性的单克隆送至测序公司进行测序。将测序得到的序列信息提交至 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> 的 Blast 软件进行分析。

2 结果

了包含 29 种 EGFR 基因突变体质控品的引物,见

2.1 引物序列 根据上述突变体构建原理,设计 表 2。

表 2 人类 EGFR 基因突变体质控品的引物序列
Tab 2 The primer sequences for human EGFR gene mutation control materials

外显子 (exon)	引物名称 (primer)	引物序列(5' - 3') (primer sequences from 5' to 3')	引物名称 (primer)	引物序列(5' - 3') (primer sequences from 5' to 3')
外显子 18 (Exon 18)	Exon 18 - F	GTTAATAGCCGTGGAACAGA	Exon18 - R	AAAATGCCTTTGGTCTGTGAA
	G719A - a	CGCACCGGAGCCAGCACTTTGATCTTT	G719A - b	ATCAAAGTGCCTGGCCCTCCGTGCGTTCCG
	G719S - a	ACGCACCGGAGCTCAGCACTTTGATCTTT	G719S - b	ATCAAAGTGCCTGAGCTCCGTGCGTTCCG
	G719C - a	ACGCACCGGAGCACAGCACTTTGATCTTT	G719C - b	ATCAAAGTGCCTGTCTCCGTGCGTTCCG
外显子 19 (Exon 19)	Exon 19 - F	GCCTAGACCGAGCATCATTA	Exon 19 - R	ATGCCTCCATTTCTTCATCC
	del 1 - a	CGGAGATGTTTTGATAGCGACGGGAATT	del 1 - b	TCGCTATCAAAAACATCTCCGAAAGCCAAC
	del 2 - a	CGGAGATGTTGCTTGATAGCGACGGGAATT	del 2 - b	TCGCTATCAAGACATCTCCGAAAGCCAAC
	del 3 - a	GCTTTCGGAGACTTGATAGCGACGGGAATT	del 3 - b	TCGCTATCAAGTCTCCGAAAGCCAACAAGG
	del 4 - a	TTCGGAGATGCCTTGATAGCGACGGGAATT	del 4 - b	GCTATCAAGGCATCTCCGAAAGCCAACAAG
	del 5 - a	GCTTTCGGAGCCTTGATAGCGACGGGAATT	del 5 - b	GCTATCAAGGCTCCGAAAGCCAACAAGG
	del 6 - a	GGCTTTCGGATCCTTGATAGCGACGGGAATT	del 6 - b	CTATCAAGGATCCGAAAGCCAACAAGGAAAAT
	del 7 - a	GAGATGTTGCTTTCCTTGATAGCGACGGGAATT	del 7 - b	TATCAAGGAAGCAACATCTCCGAAAGCCAAC
	del 8 - a	CTTTCGGAGATTCCTTGATAGCGACGGGAATT	del 8 - b	TATCAAGGAATCTCCGAAAGCCAACAAGG
	del 9 - a	TGGCTTTCGGTTCCTTGATAGCGACGGGAATT	del 9 - b	TATCAAGGAACCGAAAGCCAACAAGGAAATC
	del 10 - a	TTCGGAGATGATTCCCTTGATAGCGACGGGAATT	del 10 - b	TATCAAGGAATCATCTCCGAAAGCCAACAAG
	del 11 - a	GCTTTCGGAGATTCCTTGATAGCGACGGGAATT	del 11 - b	TATCAAGGAATCTCCGAAAGCCAACAAGG
	del 12 - a	TTGGCTTTCGATTCCTTGATAGCGACGGGAATT	del 12 - b	TATCAAGGAATCGAAAGCCAACAAGGAAATC
	del 13 - a	CTTTCGGAGATATTTTGATAGCGACGGGAATT	del 13 - b	GCTATCAAAATATCTCCGAAAGCCAACAAGG
	del 14 - a	TTCGGAGATGTACCTTGATAGCGACGGGAATT	del 14 - b	CTATCAAGGTACATCTCCGAAAGCCAAC
	del 15 - a	GGAGATGTTGGCTCCTTGATAGCGACGGGAATT	del 15 - b	CTATCAAGGACCAACATCTCCGAAAGCCAAC
	del 16 - a	TTCGGAGATGCTCCTTGATAGCGACGGGAATT	del 16 - b	TATCAAGGAGCAATCTCCGAAAGCCAACAAG
	del 17 - a	GGAGATGTTGCTTCCTTGATAGCGACGGGAATT	del 17 - b	TATCAAGGAACCAACATCTCCGAAAGCCAAC
	del 18 - a	TTCGGAGATGCTTCCTTGATAGCGACGGGAATT	del 18 - b	TATCAAGGAACCATCTCCGAAAGCCAACAAG
	del 19 - a	TTGGCTTTCGTTTCCTTGATAGCGACGGGAATT	del 19 - b	TATCAAGGAACAGAAAGCCAACAAGGAAATC
外显子 20 (Exon 20)	EGFR 20 - F	TTCACAGCCCTGCGTAAAC	EGFR 20 - R	TTTCCACATGCAGATGGGAC
	T790M - a	CCGTGCAGCTCATCATGCAGCTATGCC	T790M - b	AGGGCATGAGCTGCATGATGAGCTGCACGGT
	S768I - a	GTTGTCCACGATGGCCATCACGTAG	S768I - b	CTACGTGATGGCCATCCTGGACAAC
	ins 1 - a	GGGGTGTCCACGCTGGCCACGCTGGCCATCA	ins 1 - b	GTGATGGCCAGCCTGGCCAGCCTGGACAACCC
	ins 2 - a	CACACGTGGGGTTACCGTCCACGCTGGCCATC	ins 2 - b	GCCAGCCTGGACGGTAACCCCACTGTGCCGCC
	ins 3 - a	CCAGCAGCGGGCACAGCTGGTGGGGTTGTCCACG	ins 3 - b	CCTGGACAACCCCACTGTGCCGCTGTGGG
外显子 21 (Exon 21)	Exon 21 - F	GTAAGTCAAGCCCAGGTCT	Exon 21 - R	GCAAGTACTGTTCCCAAAGC
	L858R - a	ACTGCTGGGTGCGGAAGAGAAAGAA	L858R - b	TTCTTTCTTCCGCACCCAGCAGT
	L861Q - a	CCGCACCCAGCTGTTTGGCCAGCCAAA	L861Q - b	GGGCTGCGCAAACAGCTGGGTGCGGAAG

注 (note): “F”、“a”表示上游引物 “F” and “a” represents forward primers; “R”、“b”表示下游引物 “R” and “b” represents downstream primers)

2.2 PCR 扩增结果 以 G719A 突变体的构建说明 PCR 扩增结果。图 2 为第 1 轮 PCR 扩增结果,其中片段 1 为引物 Exon 18 - F 和 G719A - a 扩增片段,片段 2 为引物 Exon 18 - R 和 G719A - b 扩增片段。图 3 为第 2 轮 PCR 扩增结果。

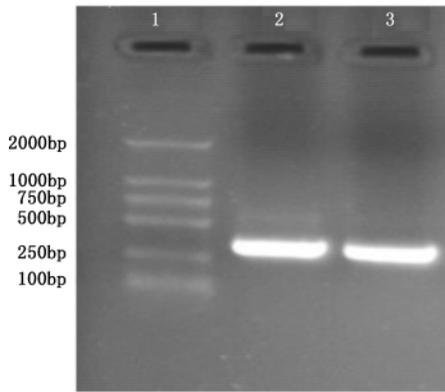


图 2 G719A 突变体构建的第 1 轮 PCR 结果
Fig 2 The first PCR of G719A mutant
1~3 依次为 Marker 2000、片段 1 和片段 2 (1~3 represents Marker 2000 ,fragment 1 and fragment 2)

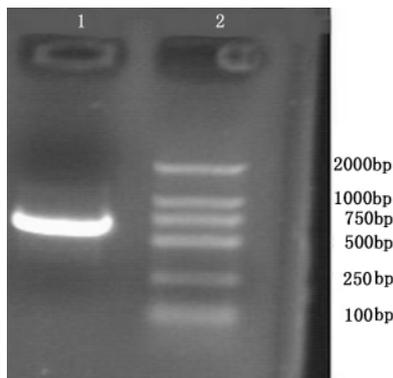


图 3 G719A 突变体构建的第 2 轮 PCR 结果
Fig 3 The second PCR of G719A mutant
1~2 分别为 G719A 突变体和 Marker 2000 (1~2 represents G719A mutant and Marker 2000)

2.3 重组质粒 PCR 鉴定和序列测定 将构建的 G719A 突变体质粒先进行 PCR 鉴定。结果如图 4 所示,以 Exon 18 - F 和 Exon 18 - R 为引物,筛选的 G719A 突变体质粒为模板,进行 PCR 反应,鉴定构建的重组质粒。

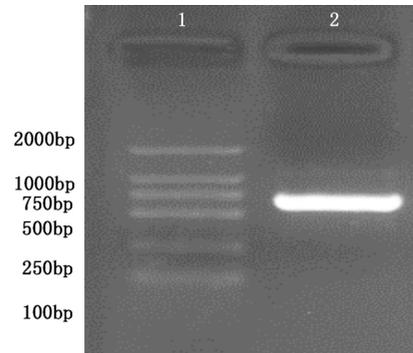


图 4 G719A 突变体质粒 PCR 鉴定结果
Fig 4 The identification of G719A mutant by PCR
1~2 分别为 DNA Marker 2000 和 G719A 突变体 (1~2 represents Marker 2000 and G719A mutant)

2.4 测定序列与 GENE BANK 中参考序列比对结果 将得到的不同突变体的重组质粒送北京华大基因公司进行测序,将得到的测序结果与 GENE BANK 中的参考序列进行比对,结果表明建立的突变体均正确。图 5 为 G719A (2156 G > C,在反向互补序列中即为 C > G) 测序结果。

3 讨论

目前人类 EGFR 突变主要是在第 18、第 19、第 20 和第 21 外显子上发生的 29 种突变,在这些突变中,第 19 位外显子的缺失突变,以及第 21 位外显子核苷酸的 2576T - G (L858R) 突变在非小细胞肺癌 (NSCLC) 中频繁出现,这些突变被认为是经典的突变,带有这些突变的病人对治疗药物易瑞沙敏感。而有些突变,如 T790M 突变的患者,则对治疗药物

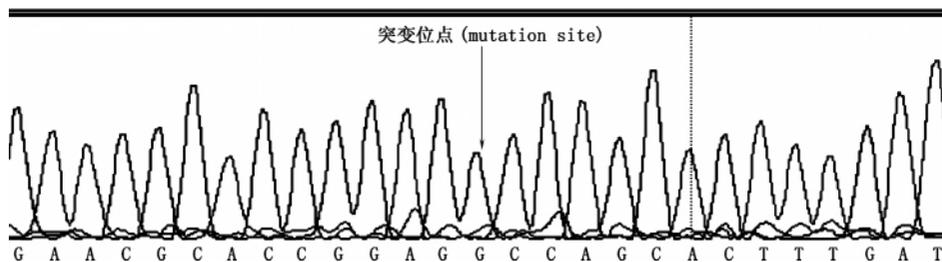


图 5 G719A 测序验证结果
Fig 5 The sequence of G719A

易瑞沙有抗药性。因此,在患者接受治疗前,先对患者的突变基因进行检测对于患者的治疗非常重要。

目前认为肿瘤细胞的突变属于体细胞突变,即突变的肿瘤细胞仅占肿瘤细胞的一定比例,并不是所有肿瘤细胞均突变。国内检测 EGFR 基因突变的试剂盒主要采用实时荧光 PCR 熔解曲线法、扩增阻滞突变系统及等位特异 PCR 等技术原理。因此,如何科学有效地评价现有的以及可能出现的新的试剂盒检测突变体的准确性、在野生型背景中检测突变体的灵敏度以及特异性等技术指标,保障临床检测试剂盒的质量可靠、检测结果可信是我们面临的问题。

采用所建立的 EGFR 突变体质控品模拟人体组织样本对试剂盒进行各项性能指标的检测是其中一个有效的解决办法。本研究所建立的 EGFR 突变体质控品包含了 29 种 EGFR 基因突变位点,基本覆盖了目前最为常见 EGFR 基因突变。国内试剂盒所能区分的 EGFR 基因突变均包含在本研究所建立的质控品中。因此,该质控品为临床实验室质量评价提供了可靠的质控物质,可用于国内大多数试剂盒的性能

评价要求。

参考文献

- 1 Reiter JL, Threadgill DW, Eley GD, et al. Comparative genomic sequence analysis and isolation of human and mouse alternative EGFR transcripts encoding truncated receptor isoforms. *Genomics*, 2001, 71(1): 1
- 2 Libermann TA, Nusbaum HR, Razon N, et al. Amplification, enhanced expression and possible rearrangement of EGF receptor gene in primary human brain tumours of glial origin. *Nature*, 1985, 313(5998): 144
- 3 Giaccone G. Epidermal growth factor receptor inhibitors in the treatment of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2005, 23(14): 3235
- 4 Wu Jianhong, Xie Qiuling, Chen Xiaojia. Epidermal growth factor receptor and signal pathway. *Chin Bull Life Sci* 2006, 18(2): 116
- 5 Siegel - lakhal WS, Beijnen JH, Schellens JHM. Current knowledge and future directions of the selective epidermal growth factor receptors Erlotinib(Tarceva) and Gefitinib(Iressa). *Oncologist*, 2005, 10(1): 579
- 6 Arteaga CL. Selecting the right patient for tumor therapy. *Nat Med*, 2004, 10(6): 577

(本文于 2011 年 7 月 15 日修改回)

《实验动物福利与动物实验科学》出版

由 11 省市 28 单位 60 余位专家学者共同编写的《实验动物福利与动物实验科学》专著,已于 2011 年 6 月由科学出版社出版发行。本书包括上篇《实验动物福利与保护立法》和下篇《动物实验伦理与动物实验替代方法》共三十四章,127 万字。

本书以实验动物福利、动物实验伦理和替代方法研究对生命科学发展的推动为主线,力求全面、准确、完整的阐述其意义和重要性、基本涵义和研究内容、与科学研究之间的关系,以及研究成果推动生命科学研究所起到的其他手段不可替代的重要作用,使科技人员对实验动物福利、动物实验伦理和替代方法的理论、知识及其应用有较全面的认识和了解。

本书以近年来国外发表的有关文献和专著、国内开展的相关工作及报道作为基本素材,着重介绍国际上的最新研究进展和有关规定与要求,总结性介绍我国开展的相关工作和取得的研究成果,阐述具有广泛共识的观点,深入探讨在我国目前条件下维护实验动物福利、开展动物实验伦理审查和推动动物实验替代方法研究与应用的总体思路、基本原则、运行方式和考虑要点等。

本书是我国第一部全面系统介绍实验动物福利、动物实验伦理和替代方法的学术著作。本书的出版得到国家科学技术学术著作出版基金委员会的大力支持和经费资助。

本书既可作为从事生命科学研究和产品(如药品、生物技术产品、化妆品等)质量检验等科技人员的专业工具书,也可作为医学院校教师和研究生的参考用书。其内容也有利于提升全社会对实验动物学科的关注,加强对促进科学发展而合理使用实验动物的理解,以及对生命科学研究热点和发展前沿的了解。

详情请浏览: www.nicbpb.org.cn