

·基础研究·

# 利用激光 AFM 和 TEM 探索肌动蛋白体外自装配聚合结构

张军<sup>1,2</sup>, 王远亮<sup>2</sup>, 程超<sup>2</sup>, CHEN Xin-yong<sup>3</sup>, 何创龙<sup>2</sup>

(1. 重庆医科大学细胞生物学及遗传学教研室, 重庆 400016; 2 重庆大学教育部生物力学及组织工程重点实验室, 重庆 400044; 3. Laboratory of Biophysics and Surface Analysis, The University of Nottingham, Nottingham NG7 2RD, United Kingdom)

**摘要:** 细胞内肌动蛋白 (actin) 通过与 actin 结合蛋白 (actin binding proteins, ABPs) 相互作用, 形成以 F-actin 为基础多种 ABPs 参与装配的高度有序的超分子聚合结构, 行使各种重要生理功能。在体外聚合条件下, 不存在 F-actin 稳定剂时纯化的 actin 主要通过自装配形成大尺度的聚集堆积结构; 这种表观无序的结构体系由于被认为不具备细胞功能活性而受到忽视。利用激光原子力显微镜 (atomic force microscope, AFM) 和透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 技术, 对 actin 体外通过自装配过程形成的大尺度聚集结构进行了细致的观察和分析。研究发现, actin 在体外通过自装配过程除了形成无序的蛋白堆积物之外, 还能够聚合形成复杂的离散结构, 包括树状分支的纤维丛、无规卷曲的纤维簇以及具有不同直径的长纤维等; 这些大尺度纤维复合物明显不同于在 ABPs 或过量 F-actin 稳定剂参与下形成的由单根微丝和微丝束构成的聚合结构。表明无 ABPs 或 F-actin 稳定剂存在的情况下, 体外聚合的 F-actin 在一定条件下可进一步聚集缠绕形成复杂的纤维结构或无序的蛋白堆积物。事实上, actin 自装配过程反映了其固有的聚合热力学特性, 深入探索将有助于理解 ABPs 在体内 actin 超分子聚合结构体系装配中的调控作用及其分子机制。

**关键词:** 肌动蛋白; 自装配; 超分子; 激光原子力显微镜; 透射电子显微镜

**中图分类号:** Q631; Q245

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1007-7146(2008)01-0001-06

## An Exploration on the Large-scale Filamentous Structures in Actin Self-assembly in vitro with Laser AFM and TEM

ZHANG Jun<sup>1,2</sup>, WANG Yuan-liang<sup>2</sup>, CHENG Chao<sup>2</sup>, CHEN Xin-yong<sup>3</sup>, HE Chuang-long<sup>2</sup>

(1. The Department of Cell Biology & Genetics, Chongqing University of Medicine Sciences, Chongqing 400016, China;  
2. Key Lab of Biomechanics & Tissue Engineering, Ministry of Education, Chongqing 400044, China; 3. Laboratory of Biophysics and Surface Analysis, The University of Nottingham, Nottingham NG7 2RD, United Kingdom)

**Abstract:** Actin is capable of being assembled into ordered supramolecular structures in living cells based on the combination between F-actin and actin binding proteins. It can also be polymerized into complexes by self-assembly *in vitro* which usually were recognized as seeming random aggregates different from those assembled in cells, which were thus ignored for quite a long time. In the present article, the laser atomic force microscope, a novel tool for surface structure exploration, and transmission electron microscope were employed to investigate the large-scale filamentous structures forming in actin self-assembly *in vitro*. It was demonstrated that the actin could be polymerized into discrete filaments of

收稿日期: 2007-04-09

基金项目: 国家自然科学基金项目 (19732030, 19732003, 19872080); 高等学校重点实验室访问学者基金项目。

作者简介: 张军 (1973—), 男, 副教授, 博士, 主要从事细胞生物化学与分子生物物理学领域的研究工作。

(电话) 023-68485806(O), 023-68485345(H); (电子信箱) zhangjun1017@sohu.com

tree-like branch structure, random coil filaments cluster and long filaments with different diameters in F-buffer besides random aggregates. These polymerized filaments clearly exhibited the structural polymorphism and showed obvious difference from those assembled under the regulation by actin binding proteins or phalloidin. It was indicated that the dynamic equilibrium of actin polymerization/depolymerization and the native conformation of F-actin were possibly responsible for the emergence of large-scale filamentous structures by self-assembly *in vitro*, which in fact reflected the inherited features of actin dynamics. In-depth investigation on actin self-assembly *in vitro* would be helpful to understand the roles of actin binding proteins in the regulation on the actin supramolecular structures assembly in cells.

**Key words:** actin; self-assembly; supramolecule; atomic force microscope (AFM); transmission electron microscope (TEM)

肌动蛋白 (actin) 是真核细胞内最保守、含量最丰富的蛋白质之一,作为细胞骨架和结构的主要成分,具有重要的细胞功能<sup>[1-2]</sup>。actin一般以球形肌动蛋白 (G-actin) 和纤维性肌动蛋白 (F-actin) 两种形式存在。G-actin的一级序列通常由 375 个 ~ 377 个氨基酸残基组成,分子量约为 43 kD。体外溶液中,在 Mg<sup>2+</sup> 或 Ca<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup> 或 Na<sup>+</sup>, 及 ATP诱导下能够自发聚合形成高分子量、右手双螺旋结构的 F-actin<sup>[3-4]</sup>。在体内,F-actin能够通过与各种类型的肌动蛋白结合蛋白 (actin binding proteins, ABPs) 相互作用,装配形成各种高度有序的超分子结构,以行使不同的细胞功能<sup>[5]</sup>。actin不仅作为不可或缺的成分参与肌球蛋白介导的肌肉收缩运动<sup>[6-7]</sup>,而且也可以通过受调控的聚合动力学过程<sup>[8]</sup>或凝胶溶液转化<sup>[9]</sup>介导细胞运动。除此以外,越来越多的研究表明,actin参与了远比以前人们认为的更加广泛和复杂的生命活动,如细胞运动、胞质分裂、细胞粘附、信号转导及离子通道调控等等<sup>[10-15]</sup>。由于 actin 在真核细胞中担负了多种重要的生理功能,自从被发现以来,其结构和功能成为细胞生物学和结构生物学的重要研究内容。不仅多种 G-actin 复合物晶体的原子结构已获得阐明<sup>[16-18]</sup>,而且 F-actin 的原子结构模型也通过纤维 X 射线衍射<sup>[19-20]</sup>和电子显微镜成像而得到建立<sup>[21-23]</sup>。在体外聚合条件下,常常观察到纯化的 actin 装配形成聚集的堆积结构;这种表观无序的结构体系由于被认为不具备细胞功能活性,长期以来未引起足够重视。此外,为获得良好的聚合结构,在 actin 体内外结构、形态和功能研究中,微丝稳定剂(如鬼笔环肽及其衍生物等)得到广泛应用。由于上述原因,纯 actin 聚合体系在体外简单热力学体系中(无 ABPs 和工具药物干预)自装配形成的大尺度聚合结构极少受到关注。

我们利用原子力显微镜 (atomic force microscope, AFM),一种已广泛应用于 actin 结构、功能及动力学

研究的新型表面结构分析仪器<sup>[24]</sup>和透射电子显微镜 (transmission electron microscope, TEM) 对 actin 体外自装配纤维结构进行了研究。发现 actin 在 F 缓冲液中,没有微丝稳定剂存在的条件下,能够通过自装配过程除了形成无序的蛋白堆积物之外,还能够聚合形成各种复杂的离散结构,包括树状分支的纤维丛、无规卷曲的纤维簇以及具有不同直径的长纤维等,与 actin 在 ABPs 和鬼笔环肽介入下自聚合形成的主要由单根微丝和/或微丝束构成的连续网络结构有明显的差异<sup>[25-26]</sup>。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

G-actin 提取自牛骨骼肌,纯化按照 Spudich 和 Watt 等人<sup>[27]</sup>的方法改良。分离的 actin 达电泳单点纯,储存于 4 °C 的 G 缓冲液中备用; Na<sub>2</sub>ATP、DTT 购自 Sigma, Tris-base、Tris-HCl 购自 Promega, 其余试剂均为国产分析纯; CSPM-2000we 型原子力显微镜为中国科学院化学研究所本原纳米仪器有限公司生产,使用 NANOPROBE™ NP 型 Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> 探针。

### 1.2 方法

1.2.1 溶液配制 G 缓冲液 (2 mmol/L Tris-Cl, pH 7.5, 0.2 mmol/L CaCl<sub>2</sub>, 0.5 mmol/L DTT, 0.2 mmol/L ATP) 和 F 缓冲液 (5 mmol/L Tris-Cl, pH 7.5, 2 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 100 mmol/L KCl, 0.5 mmol/L DTT, 0.5 mmol/L ATP) 均按常规方法制备,所有使用的溶剂和新鲜配制的溶液均通过直径 0.22 μm 的滤膜过滤去除颗粒。

1.2.2 TEM 负染色样品的制备 实验组使用普通 F 缓冲液,对照组加入过量鬼笔环肽到 F 缓冲液中,使最终溶液中的鬼笔环肽与 G-actin 的分子比达到 5:1 或以上,使聚合体系中的鬼笔环肽充分过量;分别用实验组和对照组的 F 缓冲液将 1 mL 纯化 G-actin 精确稀释至 100 mL,使溶液中 G-actin 的最终

浓度为  $5 \mu\text{g/mL}$ ,然后将样品置于  $37^\circ\text{C}$  恒温箱中孵育  $30\text{ min}$  使其聚合。聚合完成后,在  $300$  目的铜网上滴加适量待测溶液。沉降  $15\text{ min}$  后,小心吸去多余的液滴,然后按照负染的常规方法制成待测样品。

1.2.3 AFM 待测样品制备 用 F 缓冲液将  $1\text{ mL}$  纯化 G-actin 精确稀释至  $100\text{ mL}$ ,使溶液中 G-actin 的最终浓度为  $5 \mu\text{g/mL}$ ,然后将样品置于  $37^\circ\text{C}$  恒温箱中孵育  $30\text{ min}$  使其聚合。聚合完成后,在新鲜剥离的、经 F 缓冲液浸润的云母表面 ( $1\text{ cm} \times 1\text{ cm}$ ) 滴加  $5 \mu\text{L}$  待测溶液,使蛋白能够良好分散。沉降  $15\text{ min}$  后,自然脱水以尽可能维持 actin 真实的聚合结构,制成待测样品。

1.2.4 TEM 和 AFM 成像 样品制备完成后不经过任何物理和化学处理,立即在室温下 ( $25^\circ\text{C}$ ) 用 TEM 和 AFM 成像(接触模式)。原子力显微镜采集的图像保存为 BMP 格式,储存在电脑中做进一步的分析。上述所有操作均在超净工作条件下进行,以避免污染。

## 2 结果

### 2.1 复合纤维结构负染色的 TEM 观察

在过量微丝稳定剂鬼笔环肽介入下的 actin 体外聚合实验中(图 1-A),单根微丝为主要的聚合纤维成分,普遍较长,单独存在或在沉降过程中形成由取向不同的微丝组成的交联结构,分布较均匀;还能观察到少量由数根微丝构成的微丝束和纤维分支等简单聚集成结构,但观察不到大尺度的复杂纤维结构;无干预条件下(图 1-B, 图 1-C, 图 1-D 和图 1-E), actin 体外通过自装配过程主要形成离散的、大尺度的复杂纤维结构,分散的单根微丝很少。具有较粗直径的长纤维很常见,而且较长的纤维一般直径较粗,多有分支产生,在纤维结构的周边区域存在大量的蛋白堆积物,可能通过沉降过程形成。为进一步对无干预条件下 actin 自装配纤维结构进行观察和分析,下面利用 AFM 开展了后续研究。

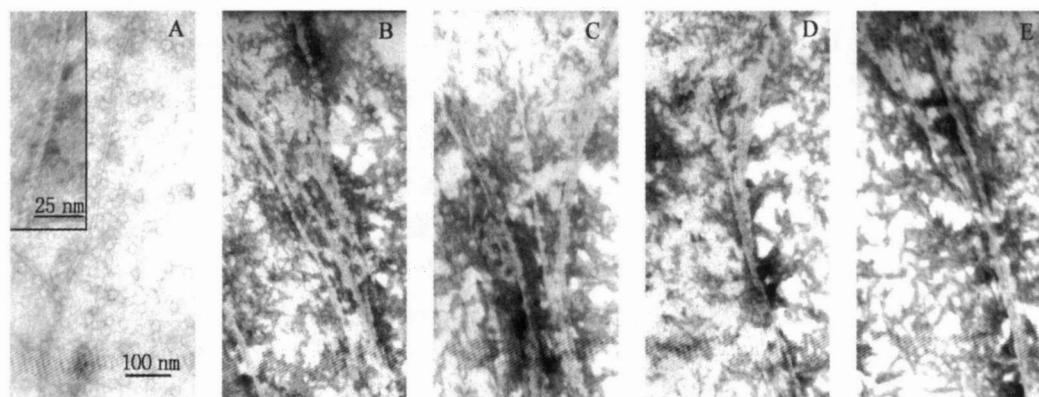


图 1 TEM 下观察到的大尺度 actin 纤维结构

Fig 1 The large-scale filamentous actin structures under TEM

### 2.2 复合纤维结构的 AFM 观察

2.2.1 聚集的纤维结构体系 无干预条件下, actin 在体外通过自装配能够聚合形成大尺度的树状分支纤维丛结构和聚集的、相互缠绕的无规卷曲纤维簇(图 2-A, 图 2-B),和 TEM 负染结果完全一致。在更大尺度上,分支纤维结构的侧支进一步缠绕形成更复杂的聚集结构(图 2-C)。同时也能观察到无序蛋白堆积物,其形成可能与样品的制备过程有关(图 2-D)。

观察表明,树状分支结构的纤维丛由多级纤维

分支形成,纤维成份间的相互作用和 F-actin 动力学过程的动态平衡可能是树状分支结构产生的必要条件,但详细的聚合动力学机制还有待进一步研究。无规卷曲的纤维簇由大量的纤维互相缠绕、簇集在一起形成,呈无规律的卷曲分布状况,推测与树状分支结构的纤维丛有很强的同源性。二者可能为聚合过程中不同阶段的产物,具有不同的空间拓扑构象。更大尺度上的复杂聚集结构可能由上述两种纤维结构在 actin 自装配动态演化过程中通过分支纤维间的相互作用所形成。

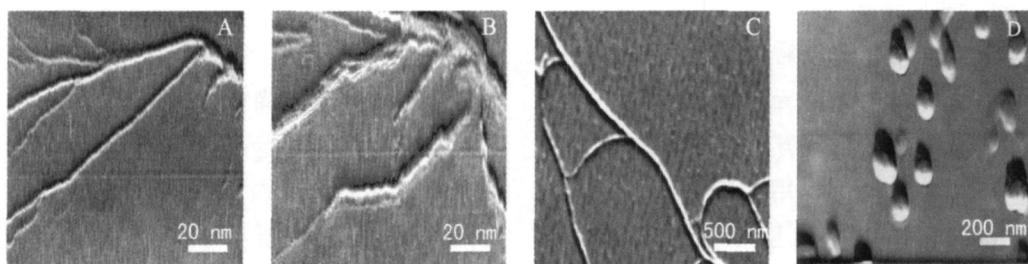


图 2 肌动蛋白大尺度聚集结构的 AFM 图像

Fig. 2 AFM images of large-scale actin aggregated structures

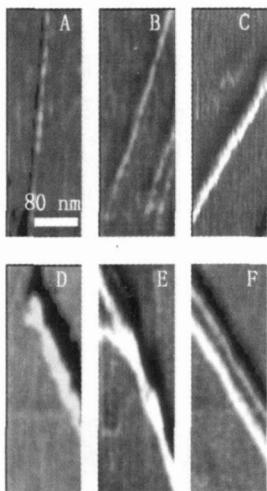


图 3 不同直径的肌动蛋白纤维

Fig. 3 Actin filaments with different diameters

**2.2.2 不同直径的 actin 纤维结构** 在 AFM 样品的不同区域, 可观察到 actin 通过自装配过程能够聚合形成不同直径 ( $7 \text{ nm} \sim 35 \text{ nm}$ ) 的长纤维。最小直径的纤维, 结构参数与单根天然 (无鬼笔环肽或其它分子结合时的) F-actin 基本一致<sup>[20]</sup> (图 3-A); 此外, 还有大量具有较大直径和分支结构的纤维出现, 表明有不同于单根微丝和微丝束的高级纤维结构产生 (图 3-B, 图 3-F)。目前初步判断, 观察到的高级结构可能是由单根微丝通过非共价作用 (氢键, 范德华力和静电作用等) 进一步形成的有序结构; 推测微丝间的相互缠绕或形成 (多级) 螺旋可能是高级纤维结构的主要构成方式。

### 3 讨论

事实上, actin 自装配过程反映了 actin 固有的聚合热力学特性。在体外 actin 通过自装配过程除了形成蛋白堆积物体系, 还可形成大量复杂的、大尺度的离散纤维结构, 这些纤维结构分布比较分散, 彼此间缺乏联系。以单根 F-actin 形式存在的纤维很少, 而

且较短; 较长的纤维一般直径较粗, 多有分支产生, 很难找到由单根微丝组成的交联网络。然而, 在微丝稳定剂鬼笔环肽介入下的 actin 体外聚合实验中, 单根微丝为主要的聚合纤维成分, 普遍较长分布较均匀。由单根微丝交联而成的网络结构比较常见。一般还能观察到由单根微丝构成的简单分支结构和微丝束, 但不能观察到大尺度的复杂纤维结构形成<sup>[25-27]</sup>。在体内, F-actin 和 ABPs 共同装配形成高度有序的超分子体系, 一般以网络状或束状形式存在, 不会形成簇集的、大尺度的树状分支结构。分析表明, 虽然细胞内没有诸如鬼笔环肽, Jasplakinolide<sup>[28]</sup>这样的微丝稳定剂, 但细胞内分布大量具有调控 actin 超分子体系装配的 ABPs<sup>[1]</sup>。现在认为, ABPs 在 actin 超分子体系中, 不仅作为 actin 骨架系统的功能成分, 更为重要的是作为装配体系的结构调控元素。在 ABPs 的调控下, 可以阻断 F-actin 的自发聚集行为, 转而形成更加有序的超分子结构体系, 以担负不同的细胞功能<sup>[29-30]</sup>。因而 actin 在体内复杂的生物热力学条件下通过受调控聚合过程不会形成体外自装配产生的大尺度聚集纤维结构。

根据对鬼笔环肽作用方式和 actin 聚合动力学的了解, 可以对反映 actin 固有热力学特性的自装配纤维结构形成过程进行简单定性的热力学分析。鬼笔环肽及其荧光标记衍生物广泛应用于 actin 在体和离体结构、功能及形态学研究, 在这些工具药物的帮助下, 获取了大量关于 actin 结构和细胞生命功能的重要信息。虽然, 微丝稳定剂鬼笔环肽与单根 F-actin 结合后, 对微丝分子结构本身影响较小<sup>[20]</sup>, 但它能阻止微丝解聚而稳定微丝结构, 从而破坏微丝聚合/解聚动力学过程的动态平衡, 改变 actin 的聚合动力学机制。在体外简单热力学体系中, actin 自装配为单纯的、无干预的热力学过程, 完全受其内在的热力学特性所驱动, 其聚合动力学机制一般遵循非稳态的踏车模型。在没有微丝稳定剂存在时, actin

自装配形成的微丝处于聚合/解聚合动态平衡中,微丝长度相对较短,不易形成大范围的交联纤维网络,但微丝之间一旦相互接触,便可能通过非共价结合,发生进一步的相互作用,缠绕或螺旋,形成实验中观察到的、复杂的离散纤维结构。而且,微丝间的相互作用增加了actin亚基之间的结合力,这可能对稳定微丝结构发挥了重要的作用,导致复杂的高级纤维结构大量,而单根F-actin由于处于热力学非稳定状态,难以在实验中被观察到;在鬼笔环肽存在时,actin聚合动力学机制发生改变,踏车行为不再出现,聚合的微丝长度能够不断增加,形成很长的单根微丝,使微丝之间容易产生相互交联,同时,由于鬼笔环肽与微丝结合后,会占据actin空间构象的特定位点以及微丝硬度的增加<sup>[20-22]</sup>,干扰了交联微丝间的进一步相互作用,阻止更为复杂的聚集纤维结构产生,因而只能形成主要由单根微丝和微丝束组成的纤维网络<sup>[25-26]</sup>。上述分析表明,actin正常的聚合/解聚合动态平衡及微丝固有的天然构象可能是大尺度复杂纤维结构产生所必需的热力学条件。

对actin体外自装配动力学及其纤维结构多态性的分子机制进行深入研究和探索,无疑能够为揭示ABPs对actin体内动力学过程的调控机制、以及阐明依赖于聚合动力学过程而形成的actin超分子结构体系的多变性提供重要的理论依据和指导,并有助于理解生物大分子装配动力学、超分子结构多态性和细胞功能多样性之间的内在联系。

### References

- [1] POLLARD T D, COOPER J A. Actin and Actin-binding Proteins: A Critical Evaluation of Mechanisms and Functions [J]. Annu Rev Biochem, 1986, 55: 987-1035.
- [2] COLUCCIO L M, BRETSCHER A. Reassociation of Microvillar Core Proteins: Making a Microvillar Core *in vitro* [J]. J Cell Biol, 1989, 108: 495-502.
- [3] ESTES J, SELDEN L, KNOSAN H, et al. Tightly Bound Divalent Cations of Actin [J]. J Muscle Res Cell Motil, 1992, 13: 272-284.
- [4] SHETTERLINE P, CLAYTON J, SPARROW J C. Actin [M]. New York: Academic Press, 1995: 2.
- [5] FURUKAWA R, FECHHEMER M. The Structure, Function and Assembly of Actin Filament Bundles [J]. Int Rev Cytol, 1997, 175: 29-90.
- [6] HOLMES K C. A Molecular Model for Muscle Contraction [J]. Acta Crystallogr A, 1998, 54: 789-797.
- [7] POLLARD T D. Actin [J]. Curr Opin Cell Biol, 1990, 2: 33-40.
- [8] SMITH S J. The Actin-based Motility of Growth Cones [J]. Science, 1988, 242: 708-715.
- [9] POLLARD T D, AEBI U, COOPER J A, et al. Actin Structure, Polymerization, and Gelation [J]. Cold Spring Harbor Symp Quant Biol, 1982, 46 (Pt 2): 513-524.
- [10] HELDMAN A W, GOLDSCHMIDT C P J. Cell Signalling and Motile Activity [J]. Symp Soc Exp Biol, 1993, 47: 317-324.
- [11] GAVIN R H. Microtubule-microfilament Synergy in the Cytoskeleton [J]. Int Rev Cytol, 1997, 173: 207-242.
- [12] ATENCIA R, ASUMENDIA, GARCIA S. Role of Cytoskeleton in Apoptosis [J]. Vitam Horm, 2000, 58: 267-297.
- [13] TIU M A, GLBERT S P. The Diversity of Molecular Motors: An Overview [J]. Cell Mol Life Sci, 1999, 56 (3-4): 181-183.
- [14] LUO L. Actin Cytoskeleton Regulation in Neuronal Morphogenesis and Structural Plasticity [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2002, 18: 601-635.
- [15] CRITCHLEY D R, HOLT M R, BARRY S T, et al. Integrin-mediated Cell Adhesion: The Cytoskeletal Connection [J]. Biochem Soc Symp, 1999, 65: 79-99.
- [16] KABSCH W, MANNHERZ H G, SUCK D, et al. Atomic Structure of the Actin: Dnase I Complex [J]. Nature, 1990, 347: 37-44.
- [17] MC LAUGHLIN P J, GOOCH J T, MANNHERZ H G, et al. Structure of Gelsolin Segment 1-actin Complex and the Mechanism of Filament Severing [J]. Nature, 1993, 364: 685-692.
- [18] SCHUTT C E, MYSLIK J C, ROZYCKI M D, et al. The Structure of Crystalline Profilin-beta-actin [J]. Nature, 1993, 365: 810-816.
- [19] HOLMES K C, POPP D, GEBHARD W, et al. Atomic Model of the Actin Filament [J]. Nature, 1990, 347 (6288): 44-49.
- [20] LORENZM, POPP D, HOLMES K C. Refinement of the F-actin Model Against X-ray Fiber Diffraction Data by the Use of a Directed Mutation Algorithm [J]. J Mol Biol, 1993, 234: 826-836.
- [21] BREMER A, MILLION R C, SUTTERLIN R, et al. The Structural Basis for the Intrinsic Disorder of Actin Filament: The Lateral Slipping Model [J]. J Cell Biol, 1991, 115: 689-703.
- [22] BREMER A, HENN C, GOLDIE K N, et al. Towards Atomic Interpretation of F-actin Filament Three Dimensional Reconstructions [J]. J Mol Biol, 1994, 242: 683-700.
- [23] MILLION R A, WHITAKER M, SAFER D. Molecular Structure of F-actin and Location of Surface Binding Sites [J]. Nature, 1990, 348: 217-221.
- [24] ZHANG J, WANG Y L, GU L, et al. Atomic Force Microscopy of Actin [J]. Acta Biophys Sin, 2003, 35 (6): 489-494.
- [25] SHAO Z, SHI D, SOMLYO A V. Cryoatomic Force Microscopy of Filamentous Actin [J]. Biophys J, 2000, 78 (2): 950-958.
- [26] CORAA S, STEINMETZ M O, STOFFLER D, et al. Structure, Assembly, and Dynamics of Actin Filaments *in Situ* and *in vitro* [J]. Microsc Res Tech, 1999, 47: 38-50.

- [27] SPUDICH J A, WATT S. The Regulation of Rabbit Skeletal Muscle Contraction [J]. *J Biol Chem*, 1971, 246(15): 4866-4871.
- [28] MAKDKA A, KUMAGAI M, OHTOMO H, et al. Effect of Jasplakinolide on the Growth, Encystation, and Actin Cytoskeleton of Entamoeba Histolytica and Entamoeba Invadens [J]. *J Parasitol*, 2001, 87(2): 399-405.
- [29] MIZUNO D, TARD N C, SCHMIDT C F, et al. Nonequilibrium Mechanics of Active Cytoskeletal Networks [J]. *Science*, 2007, 315(5810): 370-373.
- [30] CHAUDHURI O, PAREKH S H, FLETCHER D A. Reversible Stress Softening of Actin Networks [J]. *Nature*, 2007, 445(7125): 295-298.

#### · 科技信息 ·

## 关于召开“中国遗传学会第十届 全国激光生物学学术会议”首轮通知

经中国遗传学会批准，“中国遗传学会第十届全国激光生物学学术会议”拟在华中科技大学召开。会议的组织、接待及参观考察等诸项工作委托武汉光电国家实验室（筹）、生物医学光子学教育部重点实验室（华中科技大学）以及激光生命科学教育部重点实验室（华南师范大学）承办；会议论文的审稿、论文录取、出版等工作由《激光生物学报》编辑部负责。现将有关情况通知如下。

### 一、会议主题 激光生物学的发展和应用

### 二、征文内容

1. 激光生物学和生物光子学的基础研究；
2. 激光生物医学、光子中医学的基础研究及其临床应用；
3. 激光整形、美容的研究与应用；
4. 激光针灸在人类、动物中的临床应用与基础研究；
5. 离子束生物工程的基础与应用研究；
6. 辐射生物学（含激光育种、辐射育种、空间育种等）的基础与应用研究；
7. 激光生物技术（含微束照射技术、光镊技术、光谱技术、共聚焦扫描显微技术、细胞分流技术等）及其仪器的研制、应用。

### 三、时间安排 2008年 11月 27日 ~ 11月 29日

### 四、会议论文

1. 凡参加学术会议者，请提供 800字以内的中文摘要。论文摘要截止日期为 10月底。
2. 凡经审查合格的会议论文全文，将在《激光生物学报》予以发表，不另出专辑。

### 五、联系人

付 玲：华中科技大学 武汉光电国家实验室（筹）生物医学光子学研究部 G30（邮编：5430074）；电子信箱：lfu@mail.hust.edu.cn；亦可直接与《激光生物学报》编辑部联系。地址：长沙市岳麓山湖南师范大学生命科学学院内（邮编：410081）；电子信箱：jgswxb@hunnu.edu.cn；网址：<http://www.jgswxb.net>

主办单位：中国遗传学会

承办单位：武汉光电国家实验室（筹）

生物医学光子学教育部重点实验室（华中科技大学）

激光生命科学教育部重点实验室（华南师范大学）