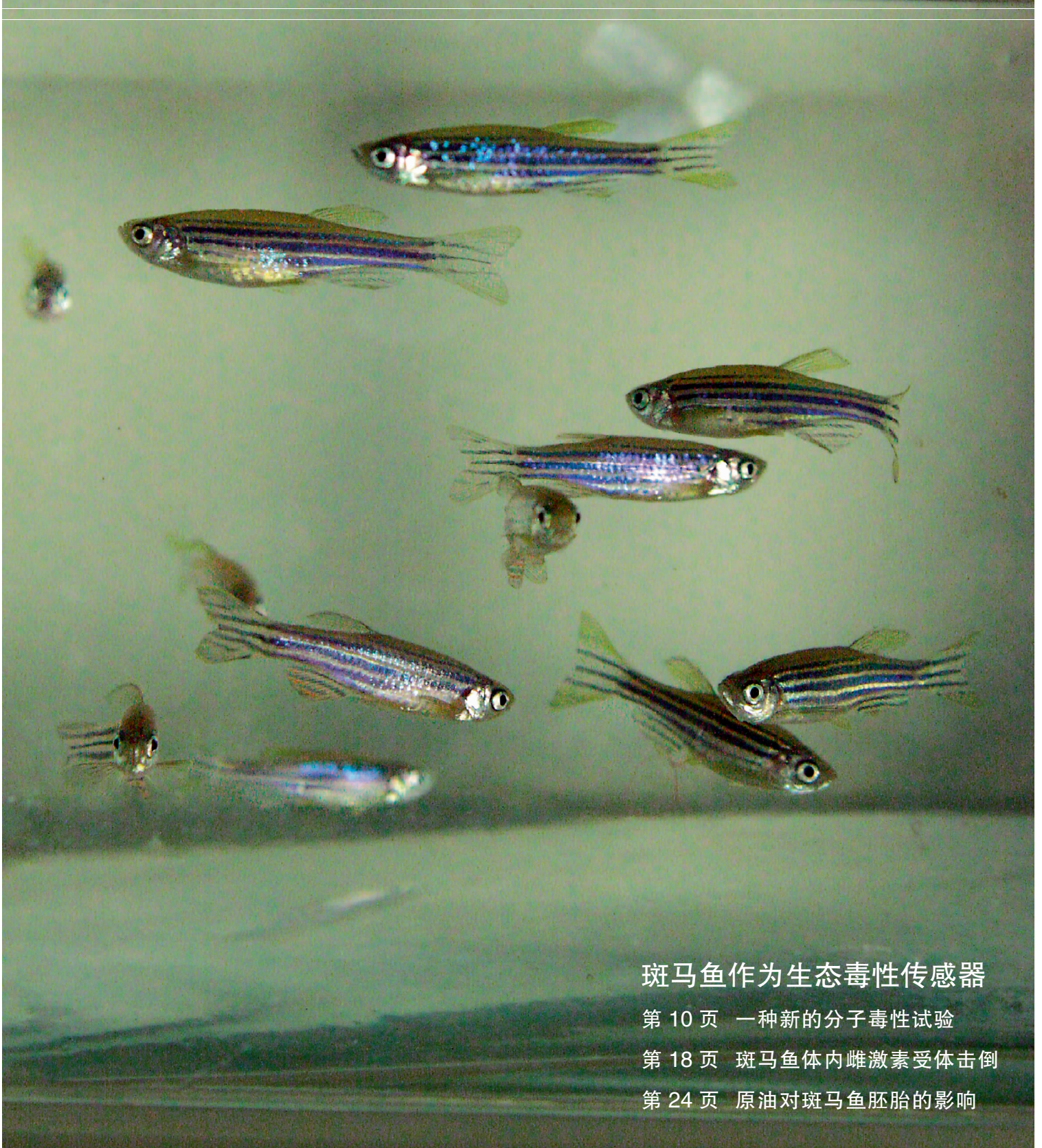


# Eawag

# 新闻



## 斑马鱼作为生态毒性传感器

第 10 页 一种新的分子毒性试验

第 18 页 斑马鱼体内雌激素受体击倒

第 24 页 原油对斑马鱼胚胎的影响



Rik Eggen, 分子生物学家,  
被任命为 Eawag 副所长之  
前曾任环境毒理学室负责人

## 斑马鱼——水生鼠

1822 年当斑马鱼或条纹鲃(*Danio rerio*)首次被描述时,无人能预见到它后来跻身于显赫地位。如今,这种蓝银条纹的鱼不仅为水生学家们所熟知,还被科学家们所“发现”,而且通常出现在研究实验室中。这种长度仅为 5~6 cm 的鱼最初引起了那些寻找脊椎动物模型的医学科学家和发育生物学家们的兴趣。研究人员被斑马鱼的众多优点所吸引:它们适应性强,易于养护,繁殖力强,仅在 24 小时内就能从受精卵发育成幼鱼,很适合于遗传分析。

在 Eawag, 将斑马鱼用作环境毒理学模型生物的想法大约是八年前产生的。当时,研究人员们对一些关于内分泌干扰化学品的报道感到震惊,他们怀疑这类物质可能与生殖器官畸形的鱼类增多有关。那时借助于玻璃试管试验已能在水样中检测到内分泌干扰物;这些如今仍在使用的的方法涉及到单细胞生物(细菌、酵母)、细胞结构或细胞组分。然而,缺乏的是能被用来研究内分泌干扰物与性腺异常因果关系的模型生物。由于斑马鱼似乎非常适合用于这一目的,所以我们从 2001 年初开始建立鱼实验室。在苏黎世大学发育生物学家 Stephan Neuhauss 和波恩大学鱼类生理学家 Helmut Segner(他们俩人都已从事了一段时间的斑马鱼研究)的协助下,我们研究了作为国家研究规划 NRP50“内分泌干扰物:与人类、动物和生态系统的相关性”和欧盟资助项目一部分的内分泌干扰性化学品明确的作用机理。本期《Eawag 新闻》将展示我们的一些主要研究结果。

我们的斑马鱼环境毒理学研究还集中在新毒性试验

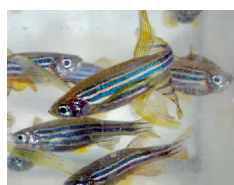
的研发上。我们的目的之一是减少成体动物用于毒性试验。与此同时,这些试验应说明这些相关物质的作用方式。因此,确定分子终端而不是依赖于(就像迄今为止的情况那样)对相对非特殊标准如形态变化或死亡率的观察,是有意义的。在 Eawag 研发并已完成过实际应用评估的斑马鱼分子致畸性试验(MolDarT),标志着这一方面的一个重要步骤。通过新的分子生物标记的确定,可以将 MolDarT 试验系统扩展到包括任意时间的其他模型。

几年前,只有少数几个环境毒理学研究小组从事斑马鱼研究,而现在这一数目正在迅速增加。另外,斑马鱼正在取代很多生命科学实验室中的啮齿动物,所以这些鱼已被称为“水生鼠”这一点并不令人吃惊。Eawag 将继续使用斑马鱼,例如在将与联邦洛桑技术研究所(EPFL)联合运作的新的应用生态毒理学中心。这一点是肯定的,即这些模型生物用于环境毒理学研究的潜力尚需全面开发。

# 目次

## 主要文章

### 4 斑马鱼作为模型



斑马鱼现正在被越来越多地用于环境毒理学研究。它们的繁殖力和发育迅速正是使它们成为理想的模型生物的两个优点。

## 研究报告

### 8 精心照料

Eawag 的水池中喂养着大约 600 条斑马鱼。标准的一天对这些生物来说包括些什么呢？Eawag 的两位实验室技术人员对此作了报道。

### 10 MolDarT——一种新的毒性试验



由 Eawag 研发的斑马鱼分子生物分析(MolDarT)可用来甄别水样的有毒物质。这种试验不需要使用成鱼。

### 13 图恩湖白鱼中不可思议的畸形



为什么图恩湖很多白鱼出现异常的性腺,这依然是个谜。作为对研究努力的一种贡献,Eawag 正在验证污染物引起这类异常的这一假说。

### 16 雌激素在器官形成过程中的作用

雌激素在生物体内发挥各种作用。它们还涉及性别决定和侧线器官发育吗？

### 18 斑马鱼体内雌激素受体击倒

雌激素被细胞中的受体所识别。但当雌激素受体的产生在实验中受到抑制时会发生什么情况呢？

### 20 二恶英的雌激素相关作用



二恶英是据信会干扰动物激素系统的分布广泛的污染物。Eawag 一项研究已发现,它们既能产生雌激素影响,又能产生抗雌激素影响。

### 24 原油对斑马鱼胚胎的影响

石油泄漏经常会出现,多年后仍能在水中检测到石油。基因切片实验揭示了慢性曝露所造成的危害。

### 27 蛋白质模式揭示的对污染物的曝露

蛋白质分析可以确定曝露于污染物的生物体内被诱发或受抑制的蛋白质。Eawag 现已建立了这一方法。

## 其他

### 30 出版物

### 34 论坛

Eawag 派生公司:地表径流的无害化管理  
新的应用生态毒理学中心

### 36 简讯

## eawag

水生研究

出版:瑞士联邦水生科学与技术研究所  
Eawag, P.O. Box 611, 8600 Dübendorf, Switzerland  
电话: +41(0)44 823 5511  
传真: +41(0)44 823 5375  
网址: <http://www.eawag.ch>

编辑: Martina Bauchrowitz, Eawag  
出版情况: 每年 2-3 期, 以英、德、法 3 种文字出版

中文版翻译出版: UNEP-Infoterra 中国国家联络点  
北京市 2871 信箱 邮编: 100085  
电话: (010) 62920727 62849120  
传真: (010) 62923563  
电子邮件: [nfpkszh@rcees.ac.cn](mailto:nfpkszh@rcees.ac.cn)  
网址: <http://www.rcees.ac.cn>  
ISSN 1440-5289



Martina Bauchrowitz,  
生物学家,《Eawag 新闻》编辑

# 斑马鱼作为模型

大约 8 年前,环境毒理室开始了有关斑马鱼的研究。自那时以来,一个由分子生物学家 Rik Eggen 领导的活跃的团队一直在从事这种新的模型生物的研究。现在,这些研究者有机会来证明他们的工作。

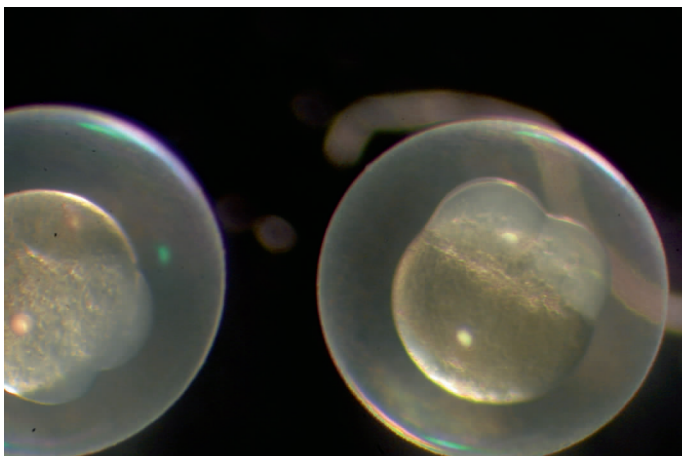
环境毒理室的前负责人、现 Eawag 副所长 Rik Eggen 在热情解释斑马鱼是如何被确立为 Eawag 生态毒理模型系统时说,“这一主意已经在我脑海里呈现许久了”。20 世纪 90 年代后期,他不是继续从事单细胞生物(如细菌、酵母和藻类)或细胞培养,而是寻找更先进的完整动物模型。他在文献中看到了斑马鱼,当时,这种鱼正在大出风头,尤其是在医学和发育生物学方面。正如 Eggen 指出的那样,这些长度仅为 5~6 cm 的鱼具有许多优点。它们的遗传间隔短,3~4 个月就性成熟了;雌鱼产下大量鱼卵,这些鱼卵被雄鱼体外授精;透明的胚胎完全在母体外发育(见照片),这使得人们很容易发现任何形态变异。

**偏爱暖水** 2001 年,我们终于获得了首批 20 条斑马鱼。如今,Eawag 的水池中喂养了大约 600 条斑马鱼,受精卵在日常基础上被用于生态毒理学实验。实验室技术员 Karin Rüfenacht 从一开始就参与了这项工作(见第 8 页文章)。这种鱼的安宁对她来说是非常重要的:虽然不常发生这种情况,即她所照管的一条鱼不得被弄死,

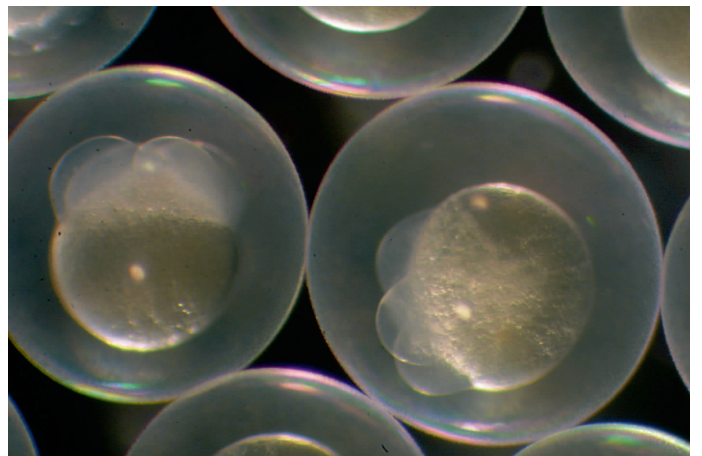
如果发生了这种情况,那么多年之后她仍然会难过。幸运的是,斑马鱼是一种要求不太高的物种,容易喂养:它们对水、饲料和池子大小的要求适度。不过,它们的确偏爱暖水,毕竟,它们产自印度、孟加拉国和巴基斯坦恒河支流。从分类学来看,斑马鱼(*Danio rerio*)是鲤科的一个成员,鲤科是最大的淡水鱼科,拥有 1400 多个物种。

**一种新的毒性试验** Eawag 第一位从事斑马鱼研究的博士生是 Jane Muncke。与她当时的导师 Nina Schweigert 一起承担了研发一种用于甄别水中环境毒物的斑马鱼分子分析的任务(见第 10 页文章)。Muncke 解释说:“如同在涉及单细胞生物或细胞培养的毒性试验中所观察到的那样,人们简单地想像毒性物质的影响也会以相同方式在脊椎动物体内显现出来。但这是否真实却完全不清楚,实际上这是无法预计的。”的确,需要考虑两个对化学毒性产生重大影响的因素:首先,脊椎动物从环境中摄取的物质要比单细胞生物复杂得多,其次,脊椎动物会通过代谢转化化学品。“这就是为什么我们决定研发

受精卵细胞分裂:2 细胞、4 细胞以及……



Photos: Steve Baskauf 2002, <http://bioimages.vanderbilt.edu/>





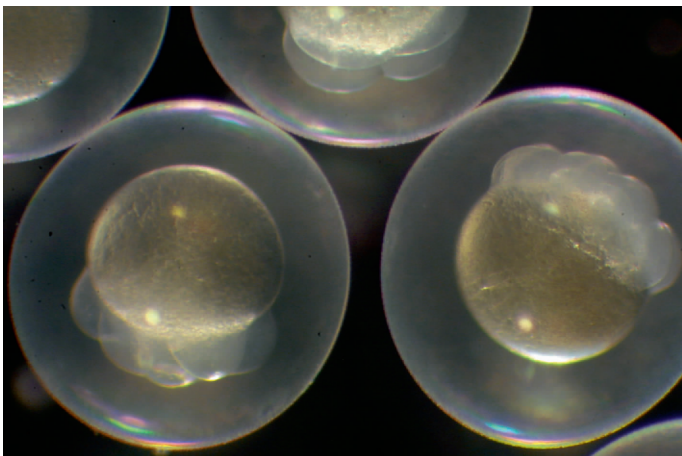
早期囊胚阶段(受精后大约 2.3 小时):卵黄囊一端形成许多细胞

一种脊椎动物毒性试验的原因。其他主要原因是这一现实:这种分析不需要使用成鱼,而且还可以深入了解分子水平上的化学品的作用机理。

**是什么导致了图恩湖白鱼的异常?** 实际检验新研发的斑马鱼毒性生物分析的第一个机会,是最近才产生的,与图恩湖项目有关。Anja Liedtke 说,“该湖隐藏着一个秘密。没有人知道过去几年中为什么会那么出现那么多生殖器官畸形的白鱼。”这位在莱比锡赫尔姆霍尔兹环境研究中心(UFZ)完成其论文后加盟 Eawag 的生物学家,正在研究这些畸形是否是由污染物尤其是雌激素干扰物引起的(见第 13 页文章)。为了这一目的以及其他毒性试验,她采用了斑马鱼分析。

**内分泌干扰物对鱼的影响** 不过,鱼性腺异常问题并不仅限于图恩湖。20 世纪 90 年代,世界各地关于雄鱼

……8 细胞期



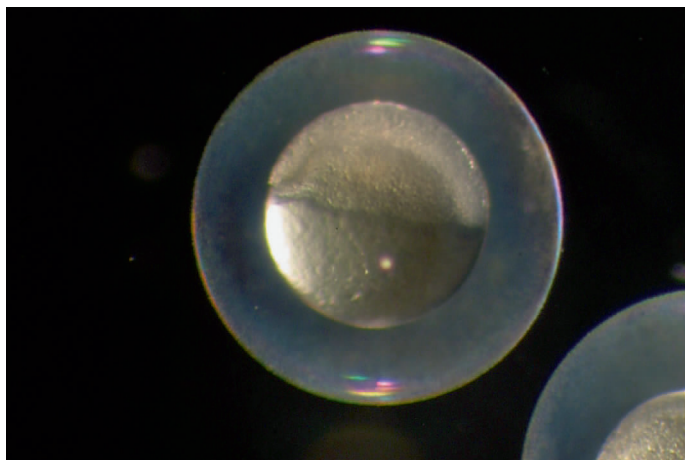
雌性化的报道越来越多。科学家们推测越来越频繁地在地表水中检测出的内分泌干扰物的存在(见专栏)与鱼变性之间有直接关联。Rik Eggen 说,“实际上,只有当你实际研究鱼时,才能最终证明这种因果关系,这是为什么 Eawag 选择斑马鱼作为模型生物的另一重要原因。”当时,这一点被认为特别有可能,即雌激素是内分泌干扰物的靶子。所以,Eggen 的研究组用斑马鱼来探索这一主题各个方面,该主题是国家研究规划(NRP50)关于“内分泌干扰物:与人类、动物和生态系统的关系”的组成部分,该规划得到瑞士国家科学基金会的资助,总共包括 26 个项目组<sup>[1]</sup>。

**鱼的性变异** 为了弄清生殖器官改变的原因,首先需要更好地了解正常的性变异过程。文献资料一般认为,当某一发育阶段脑中雌激素水平高时,斑马鱼会发育雌性性器官,雌激素浓度低时,雄性腺会发育。在这一过程中,雌激素生物合成所涉及的一种特殊的酶据信起了关

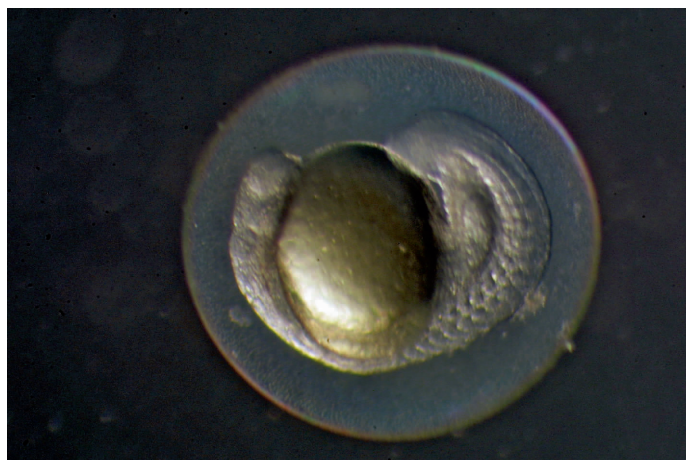
### 什么是内分泌干扰物?

内分泌干扰物是指干扰人和动物内分泌系统尤其是性激素的物质。迄今为止,目前市场上大约 10 万种化学品中只有小部分已检测出可能具有内分泌活性。不过,在地表水中经常检测到不少已知的内分泌干扰物。这些内分泌干扰物包括天然的和合成的雌激素(如口服避孕药中的活性成分)、来自人造芳香的几种麝香化合物、用于防晒霜的某些紫外线滤光剂、化妆品中的某些抗氧化剂和食品中的防腐剂、为数众多的工业化学品和二恶英(见独立专栏)。

在关于“内分泌干扰物:与人类、动物和生态系统关系”的国家研究规划(NRP50)结束时,为了概述目前的认识状况以及推荐未来的措施,“废水和水生环境中内分泌干扰物”合意论坛<sup>[2]</sup>的结论为:动情类固醇激素被认为是水生生物雌激素影响的主要原因。因此,由产业、管理当局、专业协会和研究方面代表组成的工作组,要求采用一种针对水生环境尤其是那些处理后废水未充分稀释的敏感接受水体中雌激素活性的质量目标。



早期原肠胚期(受精后大约 5.3 小时):形成 3 个胚层(外胚层、内胚层和中胚层),器官由这些胚层发育



24 小时龄胚胎;脊索已能看出

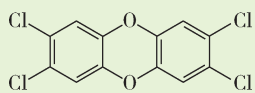
键性作用。博士生 Evi Kallivretaki 对这种假说进行了验证。她的研究表明,这一过程实际上要复杂得多,可能需要性激素与一个微调系统中的各种其他因素相互作用(见第 16 页文章)。

**没有雌激素受体,就没有侧线** 雌激素:一般只能在被细胞中的雌激素受体识别时才会各个器官中发挥作用,从而触发特殊基因表达。但当生殖器官发育时,在胚胎发生的敏感期雌激素受体的形成受到抑制时,会发

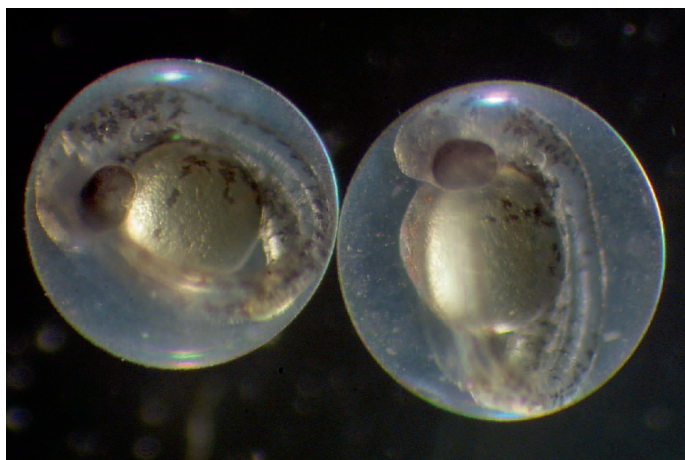
生什么情况呢?博士生 Mirjam Fröhlicher 回忆说:“我们很惊讶地发现,没有雌激素受体,斑马鱼只能环游,而且显然不再能适当导航。”目前正在记述其研究结果的 Fröhlicher 猜想,这种异常的游泳行为是由于侧线方面的变化所致,侧线是使鱼能自我定向的感觉器官。原来这是真的:环游的斑马鱼被证明缺少神经丘,而神经丘是侧线系统中的感觉细胞(见第 18 页文章)。另外,进一步的实验已证实了雌激素在侧线发育过程中所发挥的重要作用:雌激素生物合成所涉两个关键基因之一受到过抑制的斑马鱼产生的神经丘大大少于正常鱼(见第 16 页文章)。总之,这些发现明显证明了这一事实:雌激素不仅在生殖系统起作用,而且如同以前其他一些研究所示,还影响感觉器官的发育。

## 二恶英

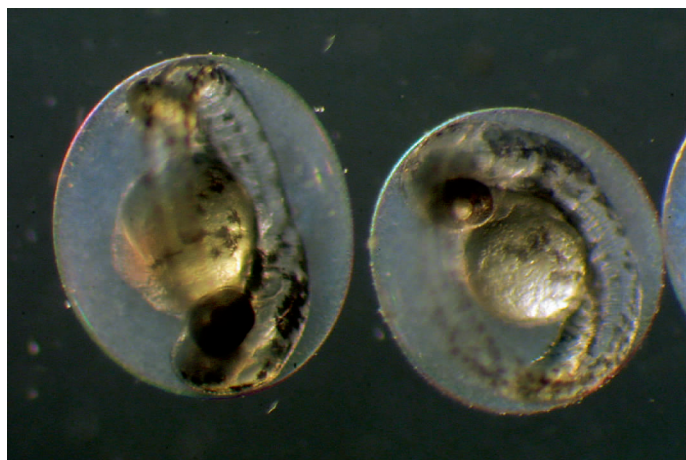
从化学角度来说,二恶英可划分为两类:具有二苯并-p-二恶英型分子结构的化合物以及二苯并呋喃型其他化合物。迄今为止,这些化合物中毒性最大的是 2,3,7,8-四氯二苯并-p-二恶英(TCDD),它作为“Seveso 二恶英”而臭名昭著。1976 年,Seveso(位于意大利北部)一家化工厂的一个反应器爆炸,释放出了大量这种物质。在焚烧过程中以及某些化学品的合成过程中,二恶英作为有害的副产物而生成;不过,诸如火山爆发和森林火灾一类自然现象也会产生二恶英。由于这些物质具有极端持久性,所以它们累积在环境中。



**二恶英的作用** 更多了解内分泌干扰物的相关性的另一个方法是,让斑马鱼直接暴露于这类物质。选用于这一研究的化学品之一是二恶英(见专栏),文献已报道过关于其雌激素效应的矛盾的研究结果。先前曾在莫斯科大学学习过的 Eawag 博士生 Ksenia Groh 强调说:“二恶英是极为有害的物质,它甚至会在浓度极低的情况下干扰内分泌系统。我对分子水平上确切发生的情况感兴趣。”Groh 研究二恶英是如何影响内分泌系统中一种重要的调节元件的(即雌激素生物合成过程中的关键基因),该元件在斑马鱼脑中是明显活跃的,而且通常受雌激素控制。在她的研究中,Groh 能够将文献数据中的一些矛盾与分歧弄明白。她发现对二恶英的暴露会改变关键基因的表达,从而导致内分泌系统的紊乱(见



2 日龄胚胎;初步的眼睛清晰可见



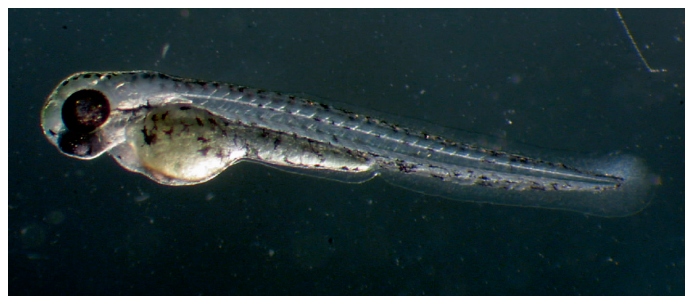
孵化前不久的 3 日龄胚胎

第20 页文章)。

**基因组分析** 斑马鱼作为模型生物的另一个好处是这一现实情况：它是首批基因组已完全测序的脊椎动物之一。正如 Jules Kemadjou 所解释那样,这一知识是基因组分析的先决条件。Kemadjou 是在卡尔斯鲁厄大学攻读博士学位时首次获得其关于斑马鱼基因组分析技术经验的。这一方法涉及到基因切片的使用,这类切片上排列着数以千计的基因。Kemadjou 现正在 Eawag 研究石油对斑马鱼胚胎的影响。他借助于基因切片旨在阐明分子水平上发生的过程,即查清当斑马鱼暴露于原油时被激活或被抑制的基因(见第 24 页文章)。

**蛋白质组分析** “这是一个类似的概念,但这两种方法在功能方面是不同的。”专门研究质谱分析的化学家 Marc Suter 概述了这方面的不同:基因组学与全体基因有关,而蛋白质组学则集中于蛋白质。这一方法研究在给定条件下蛋白质表达是如何被激发或受抑制的。尽管很

孵化后的 3 日龄鱼



复杂,但由于分析技术方法的进步,近年来蛋白质组分析已取得相当大的进展,例如,现在一般可以通过质谱分析来确定蛋白质。Suter 最近在加利福尼亚拉霍亚 Scripps 研究所度过了一个休假年,在蛋白质组学领域一流专家之一 John Yates 的实验室工作。Suter 的目的是,进一步深入了解这一方法,以便将其应用于 Eawag 关于斑马鱼的生态毒理学研究。Eawag 实验室已取得的初步结果证实了这一项目的成功,包括蛋白质组分析的进一步提高(见第 27 页文章)。

**支离破碎的问题得到解释** Rik Eggen 归纳说:“近年来,我们不仅了解了很多新东西和回答了一些重大的问题,而且还有一些惊人的发现。同时,如同科学中的情形一样,涌现出另一系列引人入胜的问题。”斑马鱼肯定已证明是一种极有价值的模型生物,并将继续用于 Eawag 生态毒理学研究。已建立的这种专门技术(例如,关于斑马鱼分子生物分析或基因组和蛋白质组分析技术),无疑将不仅在 Eawag 而且还将在由 Eawag 和洛桑联邦技术研究所(EPF)联合运作的新的应用生态毒理学中心得到开发(见第 35 页文章)。 ○○○

[1] <http://www.nfp50.ch>

[2] Consensus Platform (2008): Endocrine Disruptors in Waste Water and in the Aquatic Environment, 15 pp., [www.nrp50.ch/uploads/media/finaldocumentwater\\_english.pdf](http://www.nrp50.ch/uploads/media/finaldocumentwater_english.pdf)



Karin Rüfenacht 和 Kerstin Dannenhauer, 环境毒理学室的技术人员, 负责喂养斑马鱼

## 精心照料

Eawag 水池中喂养着大约 600 条斑马鱼 (*Danio rerio*)。这些小生物提供日常生态毒理实验所需的受精鱼卵。

上午 8:30 鱼实验室的灯亮了。这是斑马鱼开始繁殖的信号。雌鱼在水池底部的盘子中产卵, 而雄鱼则尽全力使尽可能多的鱼卵受精。此时, 这种鱼需要绝对安静, 因为任何一种干扰都会使它们立即停止产卵和授精。一条雄鱼可以为两条雌鱼的卵授精, 一条雌鱼产卵 100~200 颗。

上午 10:00 现在我们可以开始工作了。我们首先移开有鱼卵的盘子, 将它们收集在一个筛网中, 冲洗掉食物颗粒和鱼粪便。然后将受精卵与未受精卵分开, 并将受精卵发送给当天计划作实验的研究人员。受精卵是透明的, 而未受精卵则是白色的。

上午 10:15 每隔 2~3 个月, 我们用一些受精卵养育新一代斑马鱼。受精后一天, 用一种稀释的次氯酸钠溶液

对这些卵进行漂白, 目的是杀灭粘在表面的致病菌。然后, 我们让这些鱼卵在隔离池中发育 (每池放 15~20 颗卵)。仅一天之后, 斑马鱼就孵出了, 不过, 它们还要在该水池中再待 2 周。在这一期间, 给它们喂食一种特殊的幼鱼食物。幼鱼 3~6 个月就已性成熟。

上午 10:30 每天上午, 给它们喂食新孵化的海虾 (*Artemia*)。这意味着每天上午我们开始孵化新一批 *Artemia* 卵, 这样一来, 幼虾就能在第二天早晨用来喂食。较老的 *Artemia* (海虾仅在 40 小时之后就会死亡, 然后腐烂) 和未孵化的 *Artemia* 卵可能难以消化或在最坏的情况下可能会使斑马鱼致死。

上午 10:45 在喂食期间和之后, 我们非常仔细地检查这些斑马鱼: 有没有任何生病的迹象? 它们都完好无损

斑马鱼在装有大理石子的盘子中产卵



Photos: Ruedi Keller, Zurich

被称为 *Artemia* 的活海虾是斑马鱼喜爱的食物







为了确保总是有新鲜的鱼食,每天要孵化 2 批新的 *Artemia* 卵

或其中一些在彼此争斗时已受伤了吗? 或池中有漂浮的死鱼吗? 一旦发现任何病鱼或即将死去的鱼,我们就立即将它们从池中取出,并用高剂量的麻醉剂将它们扑杀。斑马鱼易感染的最严重的一种病称之为鱼结核病。可以通过下列症状辨认受影响的鱼:膨胀的肚子、凸出的鳞片和鼓突的眼睛。当鱼结核病传染极为严重时,我们可能不得不牺牲一个池中的所有鱼。这是我们发现不容易做到的一件事,毕竟这些斑马鱼是由我们从小养大的。

上午 11:00 由于我们有义务向苏黎世兽医处报告,所以我们保持着准确的记录:多少鱼死于自然条件下或非自然条件下,以及多少鱼用于我们的实验。

下午 3:30 下午中间时分之前我们不返回鱼实验室。这时斑马鱼正在饮用增强其体质的维生素鸡尾酒以及新孵化出的海虾。我们重新开始孵化一瓶 *Artemia* 卵,以便我们第二天下午能有新鲜的幼虾提供。附带说说,在

周末时,这些鱼喂食通常比平时要少些。

下午 4:00 我们每天要给这些水池换新鲜水,我们还要每周一次用手清洗水池。这包括去除食物碎屑和鱼粪便以及更换大约 20% 的池水。最后,我们将用于给斑马鱼每天早晨产卵的盘子再次放入水池。这就结束了我们在鱼实验室的日常工作,在最终检查之后,我们就与鱼儿们说再见了。

下午 10:30 夜间晚些时候,鱼实验室的灯会关闭,斑马鱼在夜里会安定下来。○○○

# MolDarT—— 一种新的毒性试验



Tane Muncke, 环境科学家,  
2006 年底她在环境毒理室  
完成了这一题目的博士论文

很多毒性试验都涉及到使用成鱼,并将致死率作为评价一种物质毒性效应的唯一标准,从而使得基础的毒性机理还不清楚。所以我们研发了一种可提供关于毒物分子效应信息的生物分析,这种分析方法不需使用成鱼。

目前有 10 万多种商用化合物在欧盟登记注册<sup>[1]</sup>。根据 2007 年 6 月生效的欧盟新的《化学品登记、评估和授权》法规(EUREACH)<sup>[2]</sup>,现有化学品以及所有年产量超过 1 吨的新物质、原料和中间产物都必须经过毒性效应试验。这些规定涵盖了估计 3 万种物质。为了进行毒性研究,经济合作与发展组织(OECD)建议使用合适的模型生

物和一系列用于急性和慢性毒性效应评估的试验。这些包括将成鱼暴露于水中污染物 96 小时(急性)或至少 14 天(慢性毒性)。所采用的毒理学标准是致死率——一种非特定的综合终点,它取决于所试化合物的浓度和毒性。这类活体试验是费时的,而且会产生动物福利问题。另外,它们虽然可以发现致死(急性毒性)剂量,但它们无法

斑马鱼喜好温暖的环境,水池室保持 29°C 恒温



Andri Bryner, Eawag

提供相关物质作用机理方面的进一步信息。所以我们的目的是,研发一种试验方法,它不仅能操作迅速和不使用成鱼,而且还能允许研究分子水平上的化学品的效应。

**试图将活体试验和试管试验的优点结合起来** 近几年来,人们一直在努力确定有毒化学品的分子目标,从而更好地了解它们的作用机理<sup>[3]</sup>。这类试验——通常在实验室单细胞生物(细胞、酵母)、细胞培养物或细胞组分上进行,而不是采用多细胞的活体试验——旨在检测特定的分子效应。例如,酵母雌激素筛分(YES)<sup>[4]</sup>分析使用遗传改变的酵母细胞来检验化学品的雌激素效应,这类效应通过颜色变化来显示。

活体试验方法的主要优点包括:一般短的曝露期、使用少量活体物质以及避免动物实验。但缺点是缺乏生物关联。简单地设想在单细胞生物中观察到的效应可能会出现在脊椎动物体内,尽管生物体外方法中缺乏来自环境的复杂的物质摄入和代谢转化——这两个过程都会大大影响化学品对高级生物产生的毒性效应。所以一种理想的方法应将传统的活体试验的积极方面与试管分子分析的积极方面相结合。

**斑马鱼被用作模型生物** 在生态毒理学方面,斑马鱼致畸性(DarT)分析<sup>[5]</sup>多年来一直用于评价化学品急性毒性。与其他鱼类试验不同,它涉及到鱼卵和胚胎而不是成鱼。斑马鱼卵发育得很快,受精后大约48小时,胚胎就

完全发育和即可孵化。各种组织以发育不完全的形式出现,某些器官的变异已大大超前。DarT 试验被用来研究发育异常,例如,尾与卵黄脱离以及曝露于化学品之后所出现的胚胎死亡率。DIN 标准规定了 DarT 试验的程序<sup>[6]</sup>。

另外,最近几十年来,斑马鱼一直被广泛用于生命科学研究。它是基因组被完全排序的首批脊椎动物之一,已有很多专门为斑马鱼而研发的分子生物方法。因此选择这一动物作为模型生物有很多充分的理由。Eawag 研发的这一新型试验方法主要基于 DarT 分析,但它也甄别亚急性毒性范围内可测的分子效应。为此,这一新方法被称之为斑马鱼分子致畸性试验(MolDarT<sup>[7,8]</sup>)。

**MolDarT 如何运作?** MolDarT 所采用的最终结果是那些其表达被某些化学品上调或下调的基因。这些基因的表达在 mRNA 水平(基因与蛋白质之间的中间体)上得到评价。与未曝露的对照物的比较使我们能确定对化学品的曝露是否会对 mRNA 的丰度以及对生物标记基因的表达产生影响。

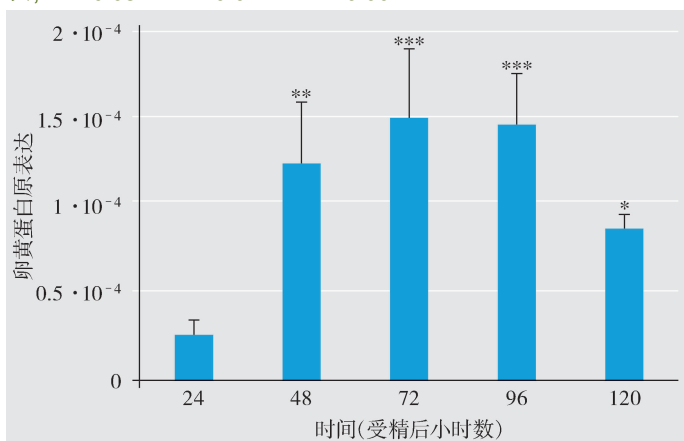
实际上,MolDarT 操作起来是比较简单的:一组大约 50 颗新受精的斑马鱼卵被放入装有化学品水溶液的皮氏培养皿中。由于 MolDarT 涉及到对亚急性范围内浓度的曝露,所以被曝露的卵/幼鱼与对照物在形态或行为方面没有差别。在 120 小时(5 天)曝露期之后,将总 mRNA 从胚胎中分离出来,实时 PCR 被用来评价目标基因的 mRNA 的相对丰度。为了校正 mRNA 分离和处理过程中出现的损失,表达水平在内部得到校正。为此,以与细胞类型、细胞阶段和外部影响无关,因而未受污染物影响(所谓家养基因)的形式表达的一种基因的标准,对生物标记基因的表达进行计算。

**MolDarT 的第一个生物标记基因:卵黄蛋白原** 我们希望确定卵黄蛋白原 1 (一种已得到广泛研究的基因)能否充当 MolDarT 方法中雌激素物质的生物标记。卵黄蛋白原基因为一种卵黄蛋白质编码,其活性受到内生雌激素的调控。正常情况下,它仅在成年雌性动物中有所表达,但如果雄性动物曝露于环境中雌激素物质时,也会引发它们体内的卵黄蛋白原基因<sup>[9]</sup>。

在最初曝露之前,我们首先调查受精后卵黄蛋白原基因在性变异之前是否也在斑马鱼卵和胚胎中有所表达。

受精后 4 个小时,尚不能检测到卵黄蛋白原 mRNA,但 24 小时之后,卵黄蛋白原基因的活性增加,受精后

图 1 斑马鱼胚胎发育过程中生物标志基因卵黄蛋白原 1 的自然表达。标有星号的数值与 24 小时后的首次测量值差异很大;\*= $P < 0.05$  \*\*= $P < 0.01$  \*\*\*= $P < 0.001$



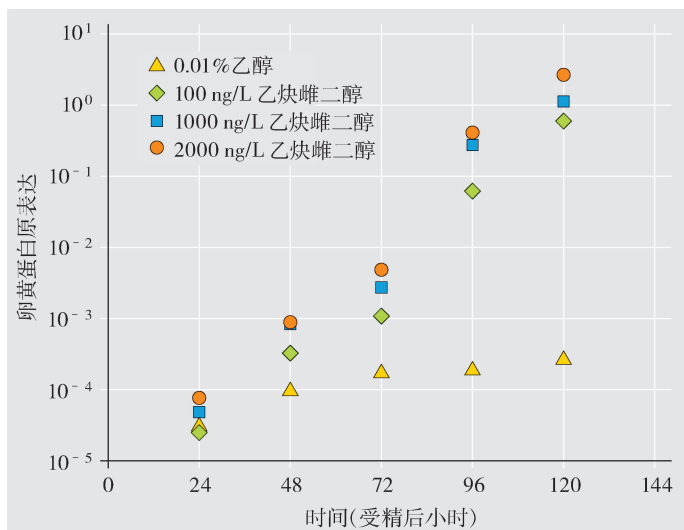


图 2 暴露于不同浓度的乙炔雌二醇 (EE2) 的斑马鱼胚胎中生物标记基因卵黄蛋白原 1 随时间而变的表达。标准误差不大于 30%

48~120 小时期间,它保持较高的水平(图 1)。

**被雌激素和其他内分泌干扰物激活的卵黄蛋白原基因** 当斑马鱼卵暴露于雌激素和内分泌干扰物质时,卵黄蛋白原表达形式如何与这些研究结果相比较呢?就我们一系列实验来说,我们使用水环境中经常检测到的雌激素物质。

我们发现,用于口服避孕剂的合成乙炔雌二醇的确会促进基因活动,根据暴露溶液中这种物质的浓度以及暴露持续时间,以卵黄蛋白原基因来表达(图 2)。获得了与天然乙炔雌二醇相比较的结果。另外,卵黄蛋白原基因被双酚 A 所激发,双酚 A 是一种被大量用于聚碳酸酯塑料制造的化合物。它是全世界最广泛生产的化学品之一。乙炔雌二醇、雌二醇和双酚 A 的雌激素效应在以前的 YES 分析中已得到证实。关于其他已知的内分泌干扰物如杀菌剂 cyproconazole,无法在 MolDarT 中检测出卵黄蛋白原基因的激发。虽然 cyproconazole 在 YES 分析中呈现积极的结果,但估计它可能在斑马鱼卵中被代谢。从而产生非雌激素代谢物。这表明,作为一种活体试验,MolDarT 更接近于实际条件,而不像 YES 分析一类试管试验。

**MolDarT: 一种适用于特殊要求的分子分析** 当 MolDarT 适合于新的试验结果和各种研究问题时,一般可以在一次暴露试验中研究任意多的生物标记基因。

Eawag 迄今已研发了 4 种模型(见第 13 页 Liedtke 的文章):

- ▶ 雌激素性(卵黄蛋白原 1 基因);
- ▶ 致畸性(复合活化基因);
- ▶ 金属毒性(金属硫蛋白 2 基因);以及
- ▶ 多环芳烃和二恶英毒性(细胞色素 P450 芳化酶基因编码)。

通过 MolDarT,可以以低的代价、少量细胞物质尤其是无需使用成体动物而迅速进行特殊毒性效应的甄别。虽然到目前为止生态相关性依然被证明用于所研究的生物标记基因,但 MolDarT 是一种可能适合于评估继新的 EU REACH 法规采用之后等待评价的很多化学品的生态风险的工具。另外,MolDarT 还能用于未知组分的环境样品的生态毒理评价。 ○○○

- [1] <http://ecb.jrc.it/esis/>
- [2] [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reach\\_intro.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/reach_intro.htm)
- [3] Schweigert N. (2001): How can the degree of pollutant impact on a stream be documented? Eawag News 51, 10–12.
- [4] Routledge E.J., Sumpter J.P. (1996): Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. Environmental Toxicology and Chemistry 15 (3), 241–248.
- [5] Nagel R. (2002): DarT: The embryo test with the zebrafish *Danio rerio* – a general model in ecotoxicology and toxicology. Altex-Alternativen zu Tierexperimenten 19, 38–48.
- [6] Din-Norm 38415-6 (2003): Subanimal testing (group T) – Part 6: Toxicity to fish; Determination of the non-acute-poisonous effect of waste water to fish eggs by dilution limits (T 6).
- [7] Muncke J., Eggen R.I.L. (2006): Vitellogenin 1 mRNA as an early molecular biomarker for endocrine disruption in developing zebrafish (*Danio rerio*). Environmental Toxicology and Chemistry 25 (10), 2734–2741.
- [8] Muncke J., Junghans M., Eggen R.I.L. (2007): Testing estrogenicity of known and novel (xeno-)estrogens in the MolDarT using developing zebrafish (*Danio rerio*). Environmental Toxicology 22 (2), 185–193.
- [9] Sumpter J.P., Jobling S. (1995): Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. Environmental Health Perspectives 103, 173–178.

# 图恩湖白鱼中不可思议的畸形



Anja Liedtke, 生物学家,  
环境毒理学室科学助理

自 2000 年以来,已在图恩湖的大量白鱼中发现性腺改变。尽管已做出了认真的研究努力,但这些畸形的原因尚未得到解释。可能的解释包括遗传因素、病菌和环境污染。为了验证污染物假说,Eawag 正在首次使用其实验室所研发的斑马鱼分析法(正如本进展报告所描述的那样)。

图恩湖隐藏着一个秘密:其大量白鱼已出现畸形的性腺(睾丸、卵巢;见专栏和图 1)。自 2000 年首次出现这种畸形鱼以来,这种独特的现象已得到密切的研究,但原因尚不清楚。根据一种理论,这类畸形是由某种污染物或污染物混合物所引起的。所以进行了化学分析,力图弄清该湖中与之有关的化合物。不过,很快就得出这样的结论:由于化学研究只允许检测已知的物质,所以这类研究是不充分的。我们现在的目的是,根据模型生物检验来自

图恩湖的环境样品,而且只是在这类样品产生生物效应的情况下才进一步进行化学表征。为此,我们正在首次使用 Eawag 所研发的 MolDarT 斑马鱼生物分析(见第 10 页 Jane Muncke 的文章)。

**宽基采样** 为了获取图恩湖的综合情况,我们在 2 年中(2005~2006 年)从白鱼发育过程中所接触的所有部分采集样品:

- ▶ 沉积物,幼鱼在那里发育;
- ▶ 浮游生物,白鱼的主要食物源;以及
- ▶ 水,提供永久生境的环境介质。

另外,我们研究白鱼肌肉,因为吸收的污染物可能会不断累积在这一组织中。

所有这些样品在生物试验系统中得以表征之前需要特殊处理。一般采用一种有机溶剂混合物从这些样品上提取活性物质,从而产生一种液体提取物。

图 1 图恩湖白鱼正常的睾丸和变形的睾丸

A)正常的卵巢;B)不对称的卵巢;C)雌雄同体:卵巢和睾丸组织在同个性腺体上;D)正常的睾丸;E)睾丸分成不同的组分;F) 睾丸与腹膜壁融合。性腺的尺寸:大约是体长的 1/3,这里约为 7~10 cm



Photos: D. Bernet, University of Bern

## 图恩湖白鱼形式式的畸形

图恩湖大约 40%的雄鱼和 26%的雌鱼出现睾丸畸形或卵巢畸形<sup>[1]</sup>。例如,已发现性器官严重发育不全或出现成单而不是成双,在某些情况下,还与腹膜壁融合在一起。很多睾丸和一些卵巢被收紧或被分为不同的部分。还出现了雌雄同体,一条鱼同时拥有睾丸和卵巢组织,或甚至这两种组织在同个性腺体上。

**输入图恩湖的污染物** 在新闻媒介中，两个历史性污染源常常被举例为这类性腺畸形的可能原因：1920~1963年期间，瑞士军队倾倒了大量弹药（例如在 Beatenbucht），以及在 Lotschberg 基线隧道工程期间，来自 NEAT 建设工地的处理过的废水一直被排入坎德河（该河流入图恩湖）。

虽然这些局部性输入不可能影响全湖的白鱼，但我们还是专门从 Beatenbucht 采集了沉积物样品，目的是要评价该释放点下游坎德河的水质。将特殊的采样装置留在坎德河达数月之久，以便让水中所含的污染物浓缩。不幸的是，2005年和2006年，这些装置均被水流冲走，所以在这个地方未获得任何结果。

**来自酵母分析的初步迹象** 由于除性腺之外白鱼的其他器官均未受到影响，所以我们猜想这类畸形可能是由于内分泌干扰物所致。这一类干扰物包括天然性激素（雌二醇和睾酮）和合成物质如口服避孕药乙炔雌二醇。不过，它还包括一些尽管未被划分为性激素但却具有内分泌效应的物质，例如双酚 A 和酞酸盐。采用酵母雌激素甄别/酵母雄激素甄别 (YES/YAS) 系统（一种基于遗传改性酵母细胞的生物分析）分析图恩湖样品中的内分泌干扰物。

水和肌肉组织样品没有获得内分泌干扰物的特殊证据。不过，检测了2006年采集的浮游生物和沉积物样品的雌激素性。还通过2005年采集的沉积物样品的提取物获得了惊人的结果：虽然没有可测的雌激素效应，但每个实例中的绝大多数酵母细胞均已死亡，这表明了总体高水平的毒性。所以我们后续的研究集中在浮游生物和沉积物方面。

**采用 MolDarT 分析浮游生物样品** 通过浮游生物样品所观察到的雌激素效应也会出现在与白鱼密切相关

的复杂生物上吗？为了回答这一问题，我们采用了称之为 MolDarT 的斑马鱼分子生物分析。这一点是很有可能：起决定作用的物质甚至无法被白鱼吸收或在其发挥效应之前已被代谢。

通过 MolDarT 系统，我们将斑马鱼卵和幼鱼暴露于浮游生物提取液达5天，然后评价在分子水平上效应是否可测。在这一特定实例中，我们研究了两种生物标记基因：雌激素物质存在情况下会被激活的卵黄蛋白原基因以及来自细胞色素 P450 族的一种基因（二恶英状物质会使其表达增加）。为了进行这一实验，将2005年采集的浮游生物均质化，来自布里恩茨湖的浮游生物充当对照物。最初选择布里恩茨湖是因为它位于图恩湖上方不远处，这两个水体被 Aare 河所连接，因此暴露于类似的环境条件。

暴露于浮游生物样品之后，雌激素和二恶英生物标记基因在斑马鱼幼鱼体内都有表达。令人吃惊的是，我们发现这两种基因也被我们对照水体——布里恩茨湖的浮游生物提取物所激活（图2）。通过这一研究发现我们得出结论：虽然来自这两个湖的浮游生物样品很可能含有雌激素和二恶英状物质，但这种浮游生物并不是图恩湖白鱼畸形的原因。

**沉积物的毒性如何？** 为了研究沉积物的毒性，进行了接触分析，15颗斑马鱼卵（受精1小时后）被暴露于气饱和培养基中的样品<sup>[2]</sup>。这一方法旨在模拟鱼生长发育的自然环境。纯石英砂和来自布里恩茨湖的沉积物被用作负对照物。

48小时（自然孵化时间）之后，斑马鱼被确定为3个范畴之一：“孵化的”、“未孵化的”或“死的”（图3）。纯石英砂负对照结果表明，沉积物接触分析中的条件总的说来不是最佳，35%的鱼胚胎未能在48小时暴露期中存活下来。图恩湖沉积物样品和布里恩茨湖对照物的实验也观察到类似的高死亡率。很明显，这些胚胎的死亡是这种培养基中氧气不足所致。

不管怎么说，可以从这一实验中得出一个重要结论：这些胚胎的发育被明显延迟。虽然在湖泊沉积物中未发现一条孵化的幼鱼，但纯石英砂负对照物中20%的胚胎已在这一点孵化出来。来自图恩湖和布里恩茨湖的沉积物估计可能含有会减慢斑马鱼生长发育的干扰物质。

**暴露于湖泊沉积物后斑马鱼幼体内改变的基因表达** 将48小时尚未孵化的斑马鱼胚胎再留置于这一沉积物

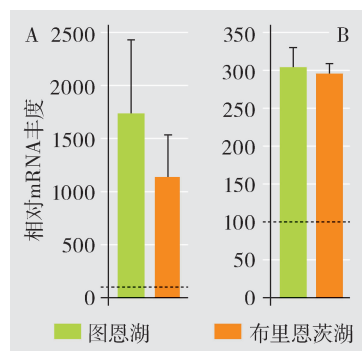


图2 斑马鱼胚胎暴露于图恩湖和布里恩茨湖浮游生物之后，雌激素生物标记卵黄蛋白原基因(A)和二恶英生物标记细胞色素 P450 1A1 基因(B)的活性。基因表达用mRNA相对丰度表示，校正到负对照物(仅溶剂)，它们被设定为100%(水平线)

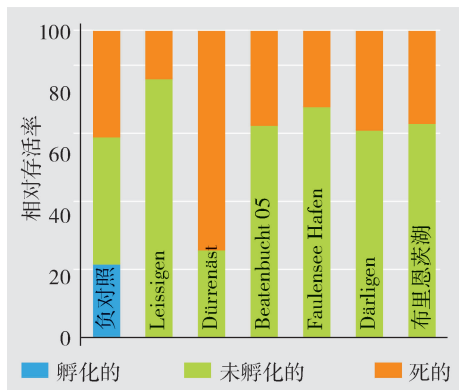


图 3 暴露于 2005 年在图恩湖 5 个不同的产卵场采集的沉积物样品 48 小时后,斑马鱼胚胎的存活率/孵化率。100%=24 小时暴露后活胚胎的总数

4 天。继这一暴露之后,借助于 MolDarT 系统对存活的幼鱼体内选出的基因的表达加以评价(图 4)<sup>[3]</sup>。卵黄蛋白原和细胞色素 P450 1A1 被再次分别用作雌激素和二恶英生物标记基因。另外,还研究了其他 3 个基因:

- ▶ 原血红素加氧酶 1 基因,任何一种应力都会激发它;
- ▶ 重组活化基因 1(rag1),它涉及免疫系统发育;以及
- ▶ 金属硫蛋白 2 基因,它在金属调节方面起作用。

不幸的是,在每一种情况下,在 2005 年沉积物样品上的 6 天孵化期中,只有 1 条幼鱼存活,这些沉积物样品在酵母分析中已显现过高度毒性。所以不可能进行分子试验。相比之下,死于 2006 年沉积物样品的鱼较少,有足够的材料用于将要分析的基因表达。2006 年,我们的采样集中在 Beatenbucht, 样品采自该湾 5 个不同的地点。我们的研究结果(图 4)表明,卵黄蛋白原基因未被激活,即酵母分析中这些沉积物样品所呈现的雌激素效应未能

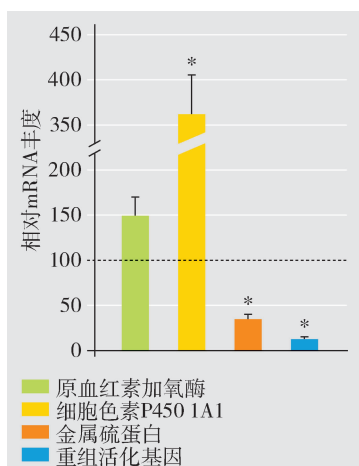


图 4 斑马鱼胚胎暴露于 2006 年采自 Beatenbucht 的沉积物样品后 4 种生物标记基因的活性。基因表达以相对 mRNA 丰度来表示,归一化至负对照物(仅溶剂),对照物定为 100%(水平线)。星号=有效误差

在斑马鱼中得到证实。原血红素加氧酶基因转换也未发生变化。与此同时,细胞色素基因的表达被促进,重组活化和金属硫蛋白基因的转换受到抑制。这表明,沉积物含有一种二恶英状物质和一些干扰金属代谢和免疫系统发育的化合物。

**接下来的步骤** 鉴于生物分析中所检测到的效应,我们目前正在进行这些潜在污染物的化学表征。为此,将复合样品提取物分成不同部分,例如根据它们成分的极性和分子尺寸,并再次对它们进行生物分析。将进一步研究具有积极的试验结果的部分,理想的是,直到一种纯物质或一种缩小的物质混合体在生物分析中产生与原提取物相同的效应。

尽管这可能没有明确地证明性腺畸形确实归咎于这些验明的污染物(毕竟生物分析涉及酵母细胞和斑马鱼而不是白鱼),但这一证据可能是相当有力的。

这一项目是由伯尔尼大学鱼类和野生动物健康中心(FIWI)和 Eawag 联合进行的。它是瑞士国家科学基金会资助的关于“内分泌干扰物:与人类、动物和生态系统的相关性”的国家研究规划 NRP50 的组成部分。该项目还得到 Faulensee 鱼场、伯尔尼渔业检查团以及伯尔尼州水与土壤保护实验室的支持。



- [1] Bernet D., Wahli T., Küng C., Segner H. (2004): Frequent and unexplained gonadal abnormalities in whitefish (central alpine *Coregonus* sp) from an alpine oligotrophic lake in Switzerland. *Diseases of Aquatic Organisms* 61, 137-148.
- [2] Hollert H., Keiter S., König N., Rudolf M., Ulrich M., Braunbeck T. (2003): A new sediment contact assay to assess particle-bound pollutants using zebrafish embryos. *Journal of Soils & Sediments* 3 (3), 197-203.
- [3] Liedtke A., Muncke J., Rufenacht K., Eggen R. (2008): Molecular multi-effect screening of environmental pollutants using the MolDarT. *Environmental Toxicology* 23, 59-67.

# 雌激素在器官形成方面的作用



Rik Eggen, 分子生物学家, 任 Eawag 副所长之前曾是环境毒理室的负责人  
 联合作者: Evangelia Kallivretaki 和 Helmut Segner(伯尔尼大学)

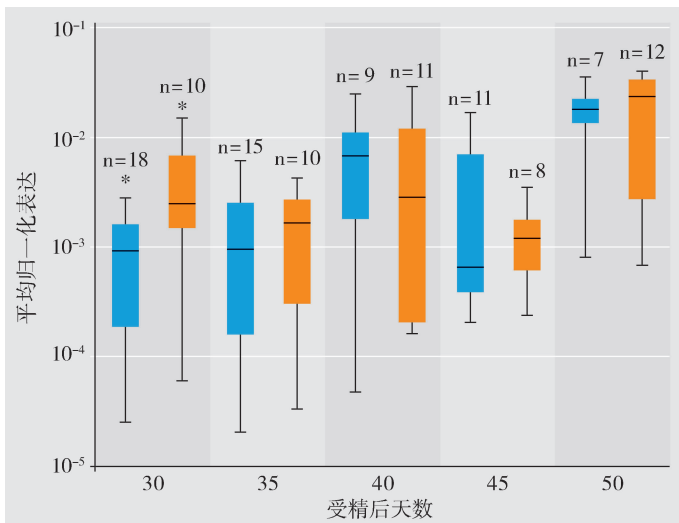
在雌激素生物合成中, 关键性的酶是细胞色素 P450 芳化酶。它催化至关重要的步骤即雄激素向雌激素的转换, 从而决定雌激素的浓度。我们使用斑马鱼来研究芳化酶是否控制性器官和侧线的发育。

雌激素是存在于所有水生和陆地脊椎动物体内的类固醇激素<sup>[1]</sup>。虽然有几种雌激素天生存在于生物体内, 但 17β-雌二醇是导致几乎所有生物活性的形式。雌激素尤其与控制性别差异、成熟和生殖有关。不过, 这些激素还在其他器官如神经系统的发育和变异方面发挥众多作用。为了确保这些不同任务能得以胜利完成, 需要在不同的生命期对雌激素水平认真加以平衡和调节。

雌激素是通过一系列中间产物由胆固醇合成的。虽

然几种酶参与雌激素的生物合成, 但雌激素的浓度水平是由这一过程的最后一步(雄激素转化为雌激素)所决定的<sup>[2]</sup>。这一关键性的反应被酶细胞色素 P450 芳化酶所催化。就斑马鱼而言, 这种蛋白质是由两种基因编码的: *cyp19a1* 主要表达于卵巢, *cyp19a2* 主要表达于脑。这两种基因都是广泛出现在环境中的微污染物潜在的攻击目标, 可能会干扰雌激素调节过程, 从而充当间接的内分泌干扰物。我们将斑马鱼用作模型生物, 研究芳化酶以及雌激素在性器官和侧线(确保鱼类测量压力变化的一种敏感器官)发育方面所起的作用<sup>[3]</sup>。这方面的深入了解提高了我们对内分泌干扰物作用机理的认识。

图 1 幼雄斑马鱼(蓝色)和幼雌斑马鱼(橙色)脑中 *cyp19a2* 基因的表达。矩形的上极限和下极限代表测量出的最高和最低 mRNA 量, 而每个矩形内的线则表示平均值(±标准误差)。n=按性别划分的个体数。\*=受精后 30 天雄性之间与雌性之间的 mRNA 水平的有效差量(p<0.012)



***cyp19a2* 决定性腺的性变异吗?** 斑马鱼是无差别的雌雄异体生物: 它们出生时是带有最初无功能卵巢的雌鱼, 这些卵巢随后要么发育成成熟的雄性腺, 要么发育成雌性腺。在我们研究的开始时, 一般认为性腺的性变异取决于脑中芳化酶表达水平和形式。这实际上会意味着什么呢? *cyp19a2* 转换得越频繁, 脑细胞中存在的芳化酶就越多, 雌激素浓度就越高——这是一种导致雌性性腺发育的情形。相反, 当雌激素水平低时, 雄性腺会形成。我们通过分析斑马鱼性腺变异全过程(即受精后 30~50 天期间)来验证这种猜想。斑马鱼头被用来量化芳化酶表达(基于基因转换/mRNA 丰度)以及表征芳化酶蛋白质在脑中的分布。与此同时, 鱼体被用来确定性腺发育状况。正在经历向睾丸转化或睾丸已明显发育的动物被分为雄性, 而那些带有非功能性卵巢的动物被看作是雌性。直到受精后大约 50 天, 雌性性腺仍保持发育成睾丸的能力。只有当卵母细胞成熟开始时, 才能确定斑马鱼的性别。



雄性与雌性斑马鱼体中 *cyp19a2* 表达没有差别。我们的分析发现,在整个试验期间斑马鱼脑中一直存在着芳化酶转换,性别组中 mRNA 丰度差异很大,而且显示出不断的轻微增加与性别组无关。不过,芳化酶转换水平与性别并不相关(图 1)。因此,*cyp19a2* 基因在性变异过程中以一种与性别无关的方式接连不断地表达。蛋白质数量方面观察到类似方式(未显示数据)。另外,雄鱼和雌鱼正在发育的鱼脑中芳化酶蛋白质的分布是相同的。正如已知的成鱼那样,酶主要产生在前脑部分(端脑和间脑)和垂体中。

我们的研究结果表明,正如以前猜想的那样,斑马鱼的性变异并不仅仅受到 *cyp19a2* 表达和雌激素浓度的调节。这一过程看起来要复杂得多,而且可能取决于各种基因以及可能其他因素相互作用,以一种微调组合的方式发挥作用。考虑到这一点,我们目前正通过瑞士国家科学基金会(CNF)资助的一个项目试图阐明这一性变异过程。

***cyp19a1* 会影响侧线发育吗?** 正如已证明的那样,雌激素不仅在性变异方面发挥重要作用,而且还在例如鱼类的神经器官的发育方面起重要作用。与这些研究结果相一致的是我们的这一观察:*cyp19a1* 基因在侧线中表达出来。这一对压力敏感的器官(通常作为眼睛周围和沿两侧的淡线可见)使鱼能将其运动限制在其周围(见第 18 页 M.Fröhlicher 的文章)。被称为神经丘的侧线器官中的受体分别由一组敏感的毛细胞组成。为了确定 *cyp19a1* 实际上是否与神经丘的发育和侧线系统有关,我们通过

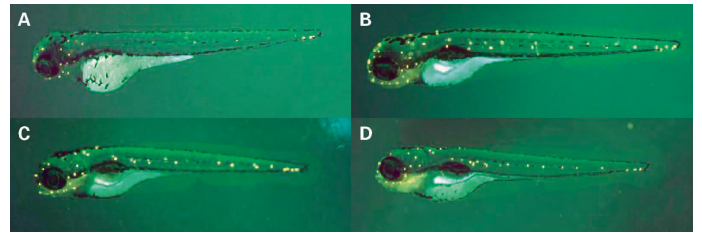


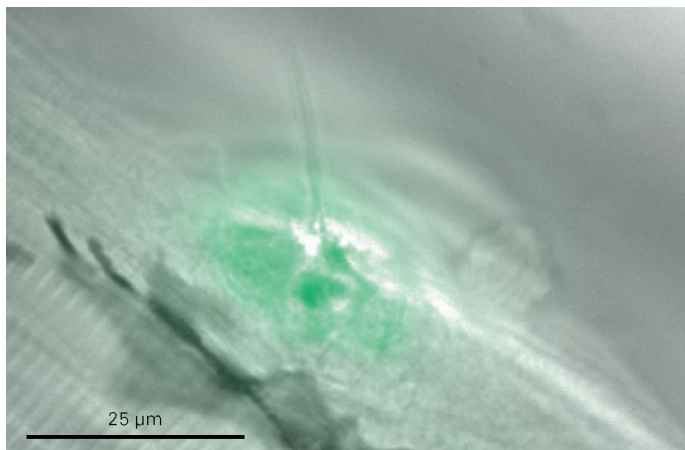
图 2 吗啉代击倒对侧线系统中神经丘数目的影响。A: 注有 *cyp19a1* 吗啉代的胚胎;B 未处理的对照胚胎;C: 注有对照吗啉代的胚胎;D 注有 *cyp19a2* 吗啉代的胚胎

“击倒技术”试验性地抑制这一基因的表达(见第 18 页的专栏)。这包括将吗啉代低核甙酸注入正在发育的斑马鱼卵,它们在那里与内生 *cyp19a1* 转录物混成。结果,蛋白质合成被中止,神经丘中的芳化酶被抑制。

***cyp19a1* 抑制会减少神经丘数目** 我们的实验表明,斑马鱼体内(图 2A)形成的神经丘远远少于未处理的斑马鱼(图 2B)或注有对照吗啉代的斑马鱼(图 2C)或将吗啉代对准 *cyp19a2* 的斑马鱼(图 2D)。所以我们得出结论:芳化酶基因 *cyp19a1* 的确与侧线系统发育有关——一个令人吃惊的研究发现。这意味着内分泌干扰物不仅作用于生殖系统,而且还影响生物极为不同的发育过程。

○○○

神经丘敏感的毛细胞。毛细胞荧光染料着色的光显微镜图和荧光显微镜图叠影



- [1] Lange I.G., Hartel A., Meyer H.H.D. (2003): Evolution of oestrogen functions in vertebrates. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 83, 219–226.
- [2] Cheshenko K., Pakdel F., Segner H., Kah O., Eggen R.I.L. (2008): Interference of endocrine disrupting chemicals with aromatase CYP19 expression or activity, and consequences for reproduction of teleost fish. *General and Comparative Endocrinology* 155, 31–62.
- [3] Kallivretaki E. (2006): Functional significance of aromatase in zebrafish during development. Dissertation, University of Bern, 156 pp.



Mirjam Fröhlicher,  
环境毒理室的生物学家和博士研究生

# 斑马鱼体内 雌激素受体击倒

只有当雌性性激素——雌激素被雌激素受体识别时，它们才能产生影响。但如果这些受体的产生受到抑制会发生什么样的情况呢？我们借助于击倒斑马鱼研究这一问题。它们行为方面一个特别惊人的特征是这一现实：它们持续环游，因为它们缺少斑马鱼正常用来自我定向的侧线器官。

影响激素系统的物质(所谓的内分泌干扰物)存在于全世界的地表水中。即使低浓度,这些化合物也会对水生生物产生不利的影响。内分泌干扰物不仅会在促进某些蛋白质产生方面取代天然激素,而且还会干扰雌激素的活动。一个关键因素是当靶子生物与内分泌干扰化合物接触时。例如,如果暴露发生在胚胎发育期间,当生殖器官和脑处于变异过程中,它可能会导致永久性缺陷和功

能紊乱,例如整个鱼种群的雌性化<sup>[1]</sup>。

绝大多数内分泌干扰物(特别是那些类似于雌激素的物质)被生物体内的雌激素受体所识别(见第 20 页图 1)。就像内生雌激素的同样方式,类雌激素物质粘附于这一受体,并激活它。因此,改变的这种活化复合体迁移到细胞核,它在那里粘附于特定的 DNA 序列——雌激素敏感要素。这些要素位于某些基因的控制区,这种受体复合体的粘附促进了这类基因的表达<sup>[2]</sup>。

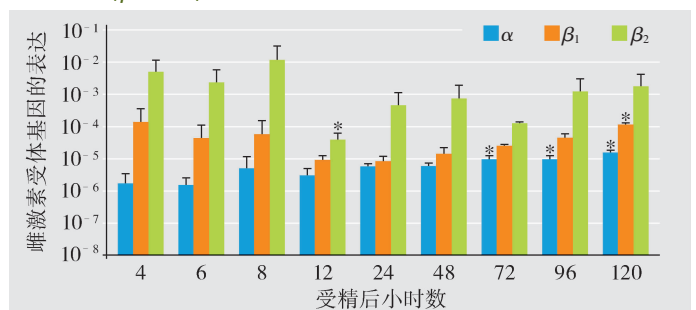
不过,当雌激素受体的形成被人为抑制尤其是在胚胎生成时期,会发生什么样的情况呢?为验证这一问题,我们决定研究斑马鱼胚胎。我们的研究是一个涉及分子水平雌激素系统的大范围项目的一部分——这是改进我们评价内分泌干扰物影响能力所需的基本知识(见第 16 页 Rik Eggen 的文章和第 20 页 Ksenia Groh 的文章)。

## 击倒技术

采用吗啉代技术,可以阻止某一时期特定蛋白质的合成,击倒技术涉及到短合成低核甙酸——所谓的吗啉代<sup>[3]</sup>。在四细胞期,将其注入斑马鱼卵的卵黄囊,然后扩散进细胞。选择吗啉代序列,从作为靶子基因起始密码子周围区的补码。结果,吗啉代与该基因的 mRNA 转录物混成,从而妨碍了蛋白质合成。大约 5 天后,该生物能降解外来的低核甙酸,蛋白质合成得以恢复。不可将“击倒”和“敲除”法相混淆,在后一种方法中,突变被结合进基因组,并被转换成后代。

为了证明注入吗啉代之后出现的形态影响的特征,还使用了对照吗啉代。这是一种标准的低核酸,该酸不寻找生物体内的互补序列去粘合。

图 1 斑马鱼胚胎发育  $\alpha, \beta_1, \beta_2$  雌激素受体基因的表达。星号表示重大差异 ( $p < 0.05$ )



**$\beta_2$  雌激素受体基因在斑马鱼胚胎发育过程中的强有力表达** 斑马鱼体内存在 3 种不同的雌激素受体—— $\alpha$ 、 $\beta_1$  和  $\beta_2$  类型。在一个初步实验中,我们旨在确定这 3 种雌激素受体基因中哪一种在胚胎发育中最强有力地得到表达。我们的分析表明, $\beta_2$  基因在受精后的头 5 天中转换得最为频繁,所以这一基因的 mRNA 丰度最大(图 1)。因此我们决定关闭  $\beta_2$  受体基因,并且为此合成了一个特殊的  $\beta_2$  吗啉代(见专栏《击倒技术》)。

顺便说说,受精后最初几小时内  $\beta_2$  mRNA 的丰度比 12 小时后要高(图 1)。但这被鱼卵中母体遗传 mRNA 转换的存在所解释。内源转换只是 12 小时后在鱼胚胎中开始,然后原生  $\beta_2$  mRNA 浓度不断增加。

**雌激素受体击倒: 低孵化率和环游方式** 何种吗啉代低核甙酸浓度对击倒  $\beta_2$  雌激素受体表达影响最大呢? 我们证明 25~50 $\mu$ M 的浓度会产生明显可测的形态改变,与此同时,未对斑马鱼胚胎施加过度的负担。不过,已发现 10 $\mu$ M 和 10 $\mu$ M 以上的吗啉代浓度会产生有毒影响。

注入 25 或 50 $\mu$ M  $\beta_2$  吗啉代的斑马鱼胚胎呈现出异常行为,不停地进行环游。另外,注入 50 $\mu$ M $\beta_2$  吗啉代的胚胎在受精后 72 小时只有 30%得到孵化(图 2)。

**击倒斑马鱼体内缺乏用于定向的敏感器官** 我们猜想不正常的游动行为是由于侧线方面的变化所致。这一系统负责距离接触感,使斑马鱼能察觉水流和振动方面最微小的变化,进而进行自我定向。侧线的传感器官是神经丘。在这些结构的中心是一批毛细胞,它们在底部与采集输入信号的神经细胞相连。这些毛细胞相连。这些毛细

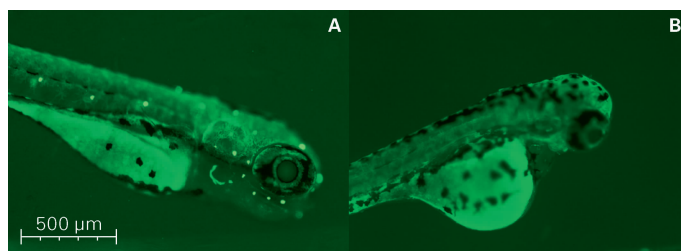


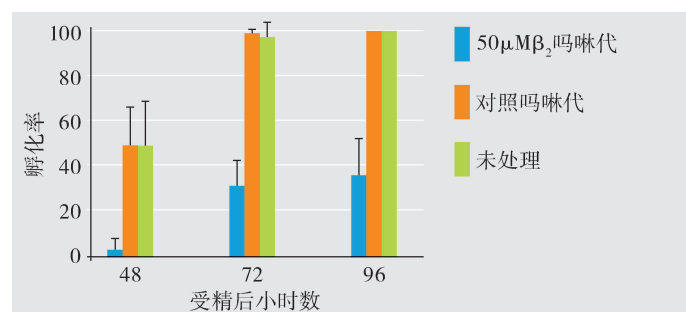
图 3 显微镜下所见的注有对照吗啉代的斑马鱼侧线中的神经丘(A)。注有 25 $\mu$ M $\beta_2$  吗啉代的击倒斑马鱼体中未发现这些器官(B)

胞被支持细胞所围绕。正常情况下,斑马鱼头部眼睛周围和身体两侧沿线有神经丘,采用荧光染料可以很容易观察到(图 3A)。但击倒斑马鱼的情况不是这样:在这些不断环游的鱼体中,神经丘要么完全没有,要么不起作用,因此无法染色(图 3B)。

**器官发育期间雌激素受体的重要性** 我们的研究结果清楚地表明, $\beta_2$  雌激素受体在胚胎发育过程中起重要作用,雌激素不仅控制性别差异和生殖功能,而且还控制一般形态发生。除了孵化率以外,雌激素/雌激素受体的相互作用还影响神经丘的形成或功能,这些对于正常游动行为是至关重要的。我们下一个研究目标是确定击倒斑马鱼增量调节或减量调节的特殊基因。



图 2 与未处理过的鱼以及注有不能制约的对照吗啉代的胚胎相比较的、受精后 48、72 和 96 小时击倒斑马鱼(注入 50 $\mu$ M $\beta_2$  吗啉代)的孵化率



- [1] Jobling S. et al. (2006): Predicted exposures to steroid estrogens in U.K. rivers correlate with widespread sexual disruption in wild fish populations. *Environmental Health Perspectives* 114 (1), 32–39.
- [2] Klinge C.M., Jernigan S.C., Mattingly K.A., Risinger K.E., Zhang J. (2004): Estrogen response element-dependent regulation of transcriptional activation of estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  by coactivators and corepressors. *Journal of Molecular Endocrinology* 33 (2), 387–410.
- [3] Ekker S.C. (2000): Morphants: a new systematic vertebrate functional genomics approach. *Yeast* 17 (4), 302–306.

# 二恶英的雌激素相关作用



Ksenia Groh, 2006 年底完成了其关于这一主题的博士论文, 现作为博士后在环境毒理室工作

二恶英是分布广泛的污染物。像雌激素一样, 这些化学品被怀疑会干扰野生动物的激素系统。例如, 鱼类的繁殖受到严重影响。为了改进对这些污染物对水生环境所构风险的评价, 我们分析了一种典型的雌激素控制靶基因的表达是否会被二恶英所改变。

近年来, 人们已报道了鱼类各种各样的发育异常和繁殖异常现象, 即畸形的性腺、雌性化的雄性或吸收雄性特征的雌性。这些异常现象至少部分与对所谓的内分泌干扰化学品(广泛存在于环境中的能够模仿或干扰激素作用的天然化合物或合成化合物)的曝露有关。迄今约有 1000 种物质已被确认或怀疑起内分泌干扰物的作用<sup>[1]</sup>。其中包括雌激素状和二恶英状化学品。

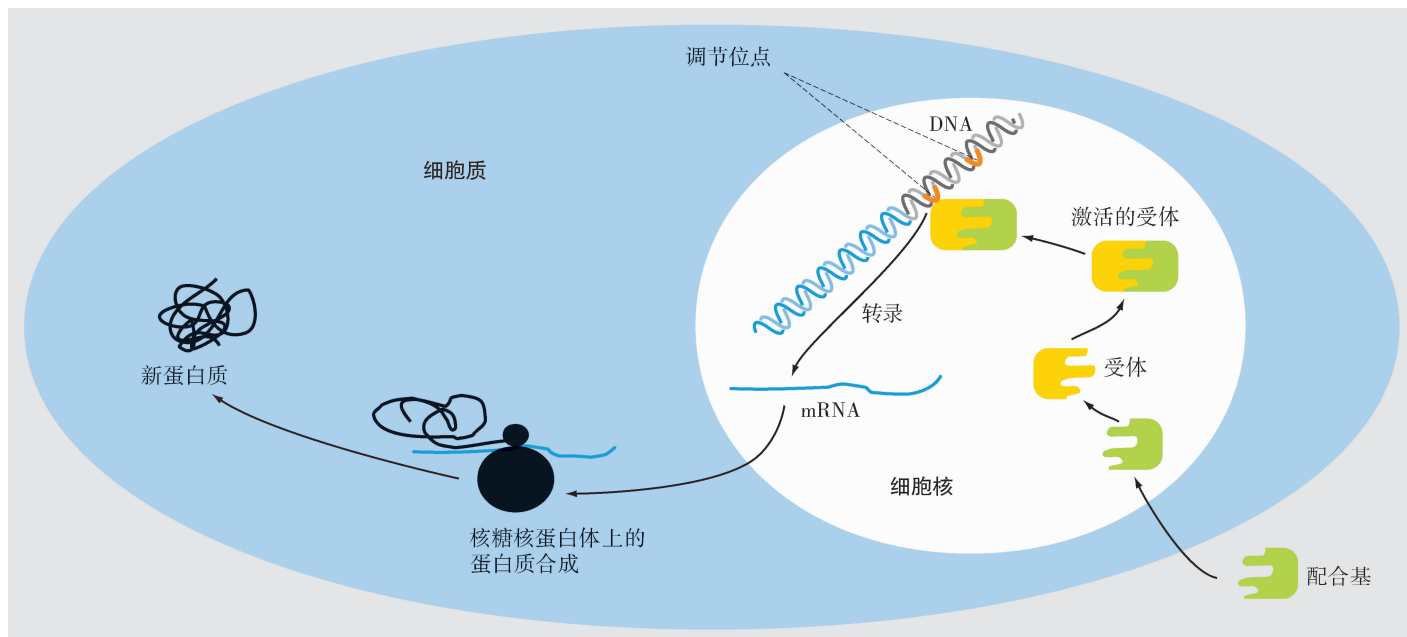
雌激素状和二恶英状物质典型的作用方式很相似(图 1): 在配合基附着于雌激素或二恶英受体之后, 这一激活的复合体将通过附着于它们启动子中所谓的雌激素或二恶英应答元件启动特定靶基因的转录。

一个潜在的靶基因可能是对酶胞色细胞 P450 芳化

酶编码的 *cyp19*, 它催化雌激素生物合成的最后一步。干扰芳化酶基因表达会改变雌激素产生速率, 使雌激素的局部水平和系统水平失衡, 从而导致雌激素所控制的生物过程的破坏。为了预测雌激素状和二恶英状化学品对这一系统潜在影响的后果, 我们旨在了解支配这一关键基因转录控制的分子机理。所以我们分析了模型硬骨鱼类斑马鱼的芳化酶基因表达。

**斑马鱼带有两种芳化酶基因** 像其他很多硬骨鱼一样, 斑马鱼有两种芳化酶基因: 主要表达于性腺的 *cyp19a* 和主要存在于脑中的 *cyp19b*。这些基因在鱼类发育和繁殖方面发挥至关重要的作用。尤其是芳化酶的脑

图 1 雌激素状和二恶英状化学品的作用方式(简图)



形态被认为与雌激素的神经内分泌功能的调节如脑的发育或雄性与雌性行为的定型有关。与其他基因相比,3个短的 DNA 序列已被预计存在于其启动子中,该启动子可能粘合激活的雌激素或二恶英受体复合体,所以与调节表达有关(图 1)。最近已证明,这些调节位点之一充当了雌激素功能性应答元件<sup>[2]</sup>,而其他两个点(二恶英潜在的应答元件)的功能性则尚未清楚地被证实<sup>[3,4]</sup>。因此,我们特定的研究问题为:

► 脑芳化酶基因中两个二恶英应答元件起作用吗,因而该基因通过图 1 所示的典型途径受到调节吗?

► 二恶英会通过受体之间的相互干扰影响雌激素的作用进而改变芳化酶表达吗?

**体内试验与体外试验相结合** 为了回答这些问题,我们将斑马鱼幼体的体内暴露与采用启动子报告基因构建的体外试验相结合。就体内暴露研究来说,将受精后 17~20 天的斑马鱼幼体饲养在含有雌激素或二恶英或这两种物质混合体的介质中。在暴露结束时,为了对 mRNA 或蛋白质进行量化。这些幼鱼被献出来进行处理。

由于脑芳化酶基因主要以神经胶质细胞的形式表达,我们采用了像体外试验系统那样的人类神经胶质细胞线<sup>[2]</sup>。神经胶质是一种为神经细胞提供支持或营养的特定的脑细胞。就我们的研究来说,这些细胞被不同 DNA 结构的组合转染:

► 报告结构:我们将虫荧光素酶用作报告基因,即这一基因在野生型或变异的(缺乏二恶英应答元件)脑芳化酶启动子控制下已无性繁殖。当基因表达被激活时,这些转染细胞就变成发光的。

► 表达结构:为了试验启动子是否通过雌激素或二恶英附着于它们反应受体而被激化,所有组分都必须呈现在这些细胞中。所以报告结构被含有基本表达的斑马鱼受体蛋白质编码序列的表达结构联合转染。

暴露于雌激素或二恶英 48 小时后,转染的神经胶质细胞溶解。

**脑芳化酶基因中的二恶英应答元件不起作用** 我们第一个实验包括将正在发育的斑马鱼幼体暴露于实验性二恶英受体配合基 2,3,7,8-四氯二苯-P-二恶英(TCDD)。TCDD 被认为是二恶英受体途径最强有力的活化剂。但既不存在对芳化酶 mRNA 数目的影响(图 2A),也不存在对脑中芳化酶蛋白质存在的影响(图 2B)。

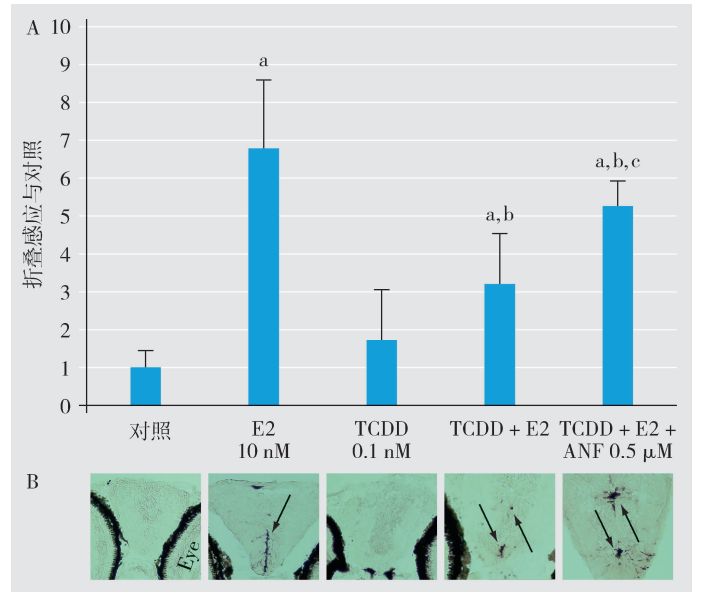


图 2 暴露于雌激素和二恶英受体配合基对斑马鱼幼体脑芳化酶的影响

A: mRNA 的数目。结果被表示为带有与溶剂相关的重复测量±标准偏差的 3 次独立实验的平均值, a=大大不同于溶剂控制的结果; b=大大不同于 E2 处理的结果; c=大大不同于 E2 和 TCDD 联合处理的结果; 所有情况下 P 均<0.05

B: 用芳化酶抗体检测的脑中芳化酶蛋白质的存在。免疫活性神经胶质细胞被作上标记

我们采用体外试验系统分析了野生型芳化酶启动子及其没有二恶英应答元件的变形式是如何对 TCDD 暴露作出反应的。神经胶质细胞已被含有二恶英受体复合体序列的表达结构转染。两个启动子都未受到影响,虽然在相同条件下带有已知二恶英应答元件的对照启动子被激活(图 3)。

另外,我们证明含有类似于预计脑芳化酶启动子中二恶英应答元件的 DNA 短碎片无法附着于活性二恶英受体复合(数据未展示)。这些观察结果让我们得出这样的结论:预计斑马鱼脑芳化酶启动子中两个二恶英应答元件都不起作用;二恶英不直接通过包括配合基受体信号传输的典型途径调节这一基因。

**相互干扰的受体:TCDD 的抗雌激素作用** 接着,我们旨在检查雌激素和二恶英受体复合物之间可能的干扰是否会影响脑芳化酶基因的表达。我们发现,二恶英会导致对斑马鱼表达产生的雌激素影响和抗雌激素影响,这取决于雌激素的存在与否。

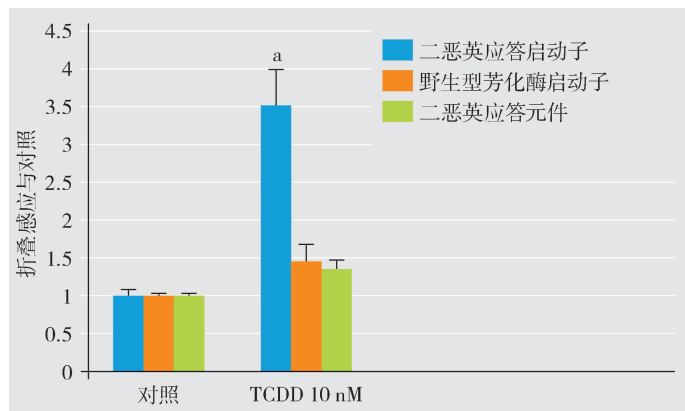
天然雌激素 17β-雌二醇(E2)有力地增量调节斑马鱼脑中芳化酶 mRNA 和斑马鱼幼体内蛋白质的表达(图 2A+B)。当细胞被基本表达雌激素和二恶英受体蛋白质的媒介共转染时,E2 还会激活体外细胞系统中的斑马鱼脑芳化酶基因启动子(图 4A)。这些研究结果与以前的一些研究是一致的<sup>[2]</sup>。对 E2 和 TCDD 的联合暴露会减少 E2 引发的斑马鱼脑芳化酶的表达。体内试验(图 2)和体外试验(图 4A)都观察到了这种抗雌激素效应。斑马鱼脑芳化酶启动子突变体(缺乏二恶英应答元件)实验和仅含有雌激素应答元件的对照启动子实验显示了相同的表达方式。所以减量调节的出现似乎与预计斑马鱼脑芳化酶启动子中的二恶英应答元件无关。

可以通过添加一种二恶英受体对抗物-α-萘黄酮(ANF)来部分(体内,图 2A+B)或全部(体外,图 4A)挽救 TCDD 的抗雌激素效应。对抗物是指一种能附着于相同受体但不激活它的物质。所以我们的结论是,二恶英受体与 TCDD 的这种减量调节机制有关。

脑中芳化酶产生的 E2 是一种很重要的亲神经和神经保护因素。可以假设,对 TCDD 的暴露会干扰 E2 引发的芳化酶的正常表达,从而减少脑中合成的雌激素的数量。

### 相互干扰的受体:TCDD 的雌激素作用 在用 TCDD 处理的神经胶质细胞中存在有斑马鱼雌激素受体

图 3 含有或缺乏可能的二恶英应答元件的脑芳化酶启动子对 TCDD 处理的反应。带有来自虹鳟鱼的功能性二恶英应答启动子的媒介被用作正对照。神经胶质细胞被为斑马鱼二恶英受体编码的表达媒介共转染。结果被表示为带有重复 3 次测量的 3 次单独实验的平均值±与非二恶英处理对照物有关的标准误差。a=大大不同于溶剂对照物的结果 (P<0.01)



和二恶英受体蛋白质的情况下,只观察到斑马鱼脑芳化酶启动子活动的轻微增量调节(图 4B)。可以通过雌激素受体对抗物 ICI 182,780 (ICI) 或二恶英受体对抗物 ANF 的共处理来阻止这种影响。这表明这两种受体都与这一过程有关(图 4B)。

缺乏预计的二恶英应答元件的斑马鱼脑芳化酶启动子突变体实验和仅含有雌激素应答元件的对照性雌激素应答启动子实验,证明了这一事实:只有启动子上的雌激素应答元件与雌激素受体和二恶英受体的这种相互作用有关。如同含有野生型斑马鱼脑芳化酶启动子的结构那样,上述后两种结构对雌激素和二恶英受体配合基处理呈现出相同的反应方式(图 4B)。

最近已证明,激活的人类二恶英受体可能直接与非配合基雌激素受体发生关系,从而通过雌激素应答元件导致基因激活<sup>[3]</sup>。我们的研究结果表明,雌激素/二恶英受体这种相互作用机制可能会被保存在鱼体中。重要的是注意这一点:只有在不存在雌激素受体配合基的体外

将受精卵与未受精卵分开



试验中才能检测到 TCDD 微弱的雌激素效应。因此,内源雌激素的存在可以解释为什么未能在斑马幼体的体内试验中观察到 TCDD 增量调节斑马鱼脑芳化酶表达(图 2A),内源雌激素防止了二恶英潜在的雌激素作用。不过,当雌激素不存在或水平很低时,TCDD 的雌激素途径仍能在生命的特定阶段或特定细胞类型的体内试验中起作用。

**结论:外来雌激素和二恶英会干扰内源雌激素脆弱的平衡** 我们关于斑马鱼脑芳化酶基因调控的分析得出这一假设:雌激素和二恶英状内分泌干扰化学品会以不同方式干扰基因的表达<sup>[6]</sup>:

► 拥有附着和激活雌激素受体能力的雌激素内分泌干扰化学品,有可能通过导致斑马鱼脑芳化酶表达无序增量调节来干扰其功能。

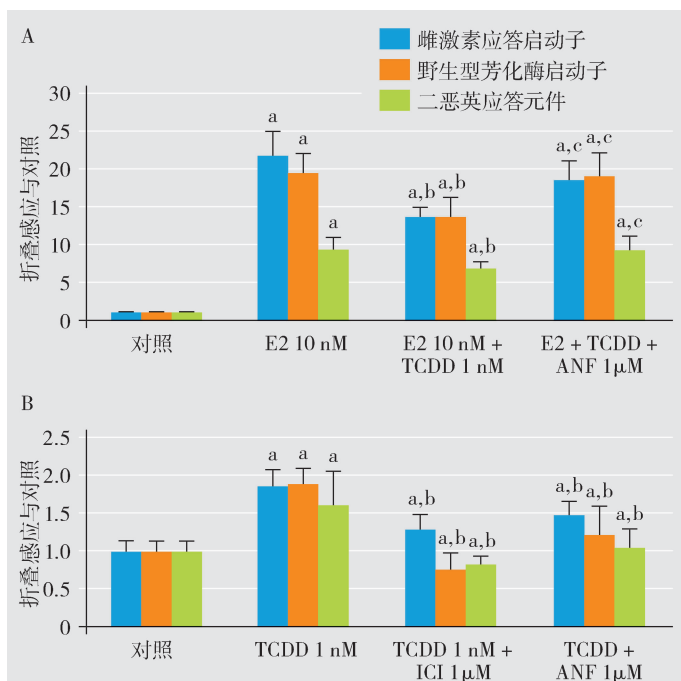
► 预计芳化酶基因的启动子中的两个二恶英应答元件不起作用,这可能是由于它们共识序列程度低所致。这一实例表明,直接分析通过序列比较分析预测的转录

调节位点的功能性是多么的重要。因此,二恶英状内分泌干扰化学品未必会通过涉及二恶英受体复合物和二恶英应答元件的典型途径影响斑马鱼脑芳化酶的表达。

► 但二恶英会影响其启动子中含有功能性雌激素应答元件的基因的表达。二恶英的这些作用要么可能是雌激素性的(导致雌激素受体的刺激以及通过雌激素应答元件激活基因表达),要么可能是抗雌激素性的(导致正常 E2 引发的转录增量调节的减弱),这取决于雌激素受体配合基的存在与否。因此,在不同的发育期,或就不同的靶生物(它们的雌激素含量可能不同)而言,二恶英的作用可能是不同的。同样,根据相同曝露溶液中雌激素物质的存在与否,环境中二恶英的作用可能也是极为不同的。



图 4 含有或缺乏潜在的二恶英应答元件的脑芳化酶对雌激素和二恶英状物质的反应。具有功能性雌激素应答启动子的一种媒介被用作正对照物。神经胶质细胞被为斑马鱼雌激素和二恶英受体编码的表达媒介共转染。A=大大不同于(A)和(B)中溶剂的结果;B=大大不同于 E2(A)和 TCDD 处理的结果;C=大大不同于 E2 和 TCDD 联合处理的结果;所有情形中,P<0.01



- [1] IEH (2005): Chemicals purported to be endocrine disruptors: A compilation of published lists. Web Report W20, Leicester, UK, MRC Institute of Environment and Health. Available at <http://www.silsoe.cranfield.ac.uk/ieh/pdf/w20.pdf>
- [2] Menuet A., Pellegrini E., Brion F., Gueguen M. M., Anglade I., Pakdel F., Kah O. (2005): Expression and estrogen-dependent regulation of the zebrafish brain aromatase gene. *Journal of Comparative Neurology* 485, 304–320.
- [3] Kazeto Y., Ijiri S., Place A.R., Zohar Y., Trant, J.M. (2001): The 5'-flanking regions of CYP19A1 and CYP19A2 in zebrafish. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 288, 503–508.
- [4] Kazeto Y., Place A.R., Trant J.M. (2004): Effects of endocrine disrupting chemicals on the expression of CYP19 genes in zebrafish (*Danio rerio*) juveniles. *Aquatic Toxicology* 69, 25–34.
- [5] Ohtake F., Takeyama K.-i., Matsumoto T., Kitagawa H., Yamamoto Y., Nohara K., Tohyama C., Krust A., Mimura J., Chambon, P., Yanagisawa J., Fujii-Kuriyama Y., Kato S. (2003): Modulation of estrogen receptor signalling by association with the activated dioxin receptor. *Nature* 423, 545–550.
- [6] Cheshenko K., Brion F., Le Page Y., Hinfray N., Pakdel F., Kah O., Segner H., Eggen R.I.L. (2007): Expression of zebrafish aromatase *cyp19a* and *cyp19b* genes in response to the ligands of estrogen receptor and aryl hydrocarbon receptor. *Toxicological Sciences* 96, 255–267.

# 原油对斑马鱼胚胎的影响



Jules Kemadjou,  
环境毒理室的生物学家和科学家

每几年就会发生石油灾难。多数情况下,对野生生物的急性影响是惊人的。但即便在几十年后,石油或其水溶化合物仍存留在水生环境中,而且似乎是持久有毒的。所以我们的目的是评价石油在亚急性情况下对鱼类产生的影响。将斑马鱼胚胎用作模型系统,我们可以确认数百种因暴露于石油而改变表达方式的基因。

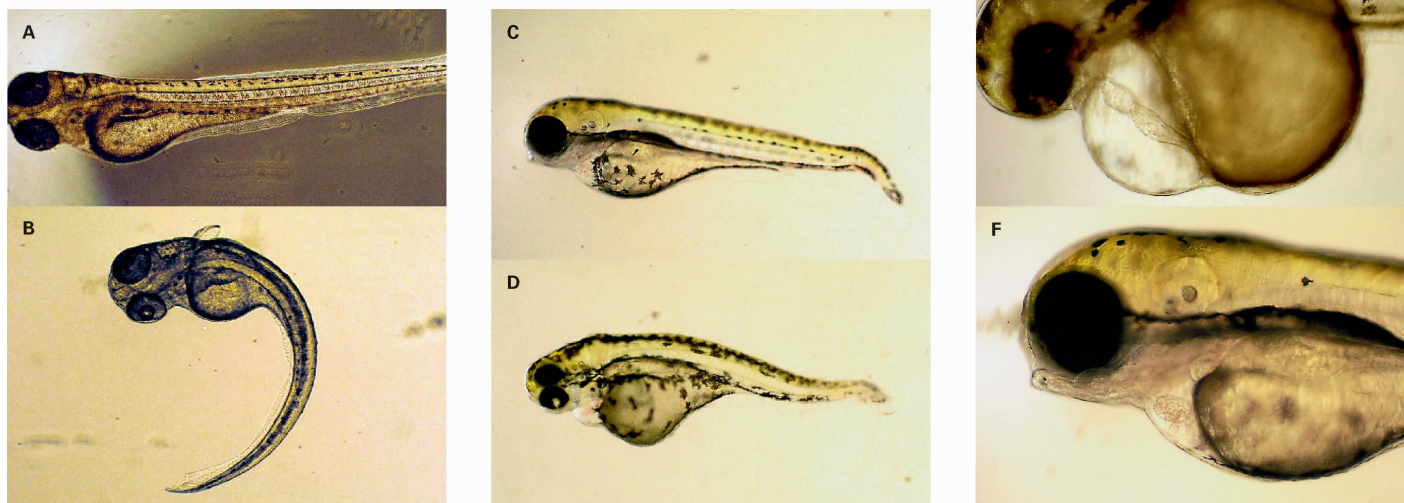
自上一次石油灾难成为头条新闻以来时间并不长。2007年底,一艘在旧金山湾撞桥的轮船泄漏了大约22万升石油。在漫长的事故性泄漏历史上,这次泄漏属于中等规模。虽然它远不及1989年在阿拉斯加发生的Exxon Valdez号轮灾难的规模(那次4100万升石油泄进海洋),但每一次急性泄漏都会对野生生物构成威胁。另外,海水中发现的石油多数可能不是归因于急性释放,而归因于自然渗漏或人类活动带来的扩散性释放<sup>[1]</sup>,这对水生环境构成了长期危害。在力图弄清石油对鱼类影响的过程中,我们将斑马鱼用作模型生物。我们尤其对分析石油对鱼类发育的影响感兴趣,因为这方面尚有

很多未知的东西。由于多数使用斑马鱼的试验依赖于显示不同毒物间微小的差别的鱼形态方面的变化,所以我们决定进行毒基因组研究。该方法可以确定那些因暴露于有毒物质而增量调节或减量调节的特殊基因<sup>[2]</sup>。

**斑马鱼胚胎发生期间石油所引起的形态变化** 我们选择挪威原油作为研究对象,因为挪威是欧洲重要的石油生产国。再有,由于在实际环境条件下,一些成分在水中是不可溶的,所以我们制备了一种调节石油馏分的水<sup>[3]</sup>。

作为第一步,我们确定了实验毒物的浓度,这些浓

图1 暴露于原油或水调节馏分之后的形态变化。A:未处理的对照物;B:脊椎弯曲;C:弯曲的尾巴;D:水肿和弯曲的尾巴;E:拉长的心脏;F:未处理的对照物,正常的心脏







Ruedi Keller, Eawag

在显微镜下检查斑马鱼的异常现象

度在避免细胞或胚胎死亡的情况下,确保至少 40%的暴露胚胎将显示出形态方面可见的影响。因此,原油是在稀释范围为 0~1000 ppm 的情况下试验的,水调节馏分浓度为 0% ~100%。

最佳浓度为 30%的水调节馏分和 100 或 1000 ppm 石油,显然 100 ppm 的形态变化的明显程度要低得多。

通过这些暴露方式观察到的主要可见迹象包括:拉长的心脏、水肿、脊椎弯曲以及尾巴弯曲,而对照的斑马鱼则发育正常(图 1)。

**暴露于石油的正在发育的斑马鱼的基因表达大大改变** 这些初步试验之后,我们开始毒理基因组实验。

受原油或水调节馏分影响的基因数目

		暴露期间的胚胎龄		
		受精后4~28小时	受精后24~48小时	受精后96~120小时
100 ppm原油	受影响的基因总数	634	639	719
	增量调节的	326	353	387
	减量调节的	308	286	332
1000 ppm原油	受影响基因总数	564	752	983
	增量调节的	315	533	428
	减量调节的	249	219	555
30%水调节馏分	受影响基因总数	46	40	230
	增量调节的	9	9	86
	减量调节的	37	31	144
受原油和水调节馏分共同影响的基因数		7	16	3

用原油或水调节馏分对处于不同发育期的斑马鱼进行处理。我们试验了

- ▶ 4 小时龄胚胎, 在原肠胚形成的开始时 (即不同细胞类型的形成);
- ▶ 24 小时龄胚胎, 在总的机体发育布局期;
- ▶ 96 小时龄鱼, 在孵化完成之后。

每次的暴露持续时间为 24 小时, 即从 4 至 28 小时, 从 24 至 48 小时以及从 96 至 120 小时。采用所谓的微阵列 (见专栏), 我们检测了数百个暴露于 100 或 1000 ppm 原油的基因, 与未处理的斑马鱼胚胎相比, 这些基因的表达水平大大改变 (见表)。最令人吃惊的是, 我们发现对 100 ppm 原油呈现重大反应的基因数, 与暴露于 1000 ppm 原油的基因数同样高。因此, 这一阵列能够检测对不引起急性形态影响的毒物浓度的反应。

与原油相反, 水调节馏分影响的总的基因数要少得多 (见表)。看起来原油中而不是水调节馏分中存在的化合物会产生协同作用, 因而导致毒性影响的增加。虽然孵化的斑马鱼胚胎中只有约 40 个基因受到影响, 但 230 个基因在后期阶段 (孵化后不久) 表达水平发生变化。这可能是由于未孵化胚胎的器官发育尚未进行得很充分。

对胚胎发育或毒物防御期特别表达基因的影响 为了寻找合适的生物标志, 我们集中研究了受原油和水调

#### 采用微阵列的毒理基因组学

微阵列或基因芯片是 DNA 显微点集, 通常代表单一基因 (排列在一个固定的矩阵上)。基因芯片可以同时监测数千个基因的表达水平。我们研究中使用的基因芯片由斑马鱼基因组组成。暴露于污染物之后, 斑马鱼胚胎被弄死提取信使核糖核酸 (mRNA), 即在暴露期间所有激活的基因的转录。平行地从未处理的胚胎中分离出 mRNA。接着, 通过酶逆向转录酶将这种 mRNA 转化成补充 DNA (cDNA), 这种 cDNA 被标上红色 (处理过的胚胎) 或绿色 (未处理过的胚胎) 荧光染料。将这些荧光探测物混合成一个单一的微阵列, 最后在一个微阵列扫描器中对之进行甄别。荧光在用一定波长的激光来激发之后是可见的。每个荧光团的相对强度可以被用于基于比率的分析, 以确定增量调节和减量调节的基因。

节馏分影响的少数基因: 这适用于胚胎发育早期 7 个基因, 24 至 48 小时龄胚胎的 16 个基因以及孵化的胚胎的 3 个基因。所观察到的毒理基因组分布图之间低的相似性, 进一步表明了毒理基因组效应的高阶段特性。

在改变了的基因中, 我们确定了那些或对胚胎发育有特效或与毒物防御有关的基因。例如, 一个增量调节的基因为一种在血细胞形成中起重要作用的蛋白质编码。还检测到 *Cyp1a1* 较高的转录水平, 这是一种为细胞色素 P450 酶超家族成员编码的基因, 它主要与毒物防御有关。

**斑马鱼胚胎: 一种用于污染物评价的有效模型系统** 我们的初步研究工作表明, 斑马鱼胚胎可以充当用于监测化学品毒理基因组影响的专门的、高灵敏度的全动物模型<sup>[1]</sup>。虽然脊椎动物细胞线和其他体外试验方法在评价药物和污染物的毒性效应方面相当有价值, 但它们无法完全取代全动物试验系统。斑马鱼胚胎代表一种低成本和伦理可接受的脊椎动物模型, 它不仅将可用于根据欧盟 REACH 规划需试验的数万种化合物的毒性评估, 而且还能有助于在药物研发的早期阶段评估新型化合物的发育毒性。另外, 斑马鱼胚胎尤其适合于评估细胞变异和形态形成期间污染物的效应, 这些在细胞培养或其他体外试验系统中是无法测定的。

为了完整解读原油的毒性, 我们下一个计划是检查斑马鱼发育早期生命阶段蛋白质组分布图。生物的蛋白质组分析可以检测应对环境压力时各种蛋白质水平微妙的变化。这可以深入了解毒性机理, 进而可能导致新的一般暴露生物标记的发现, 这些标记可以用作分子评价工具。 ○○○

- [1] National Research Council (2002): Most oil enters sea from nonaccidents – Environment. Science News. Science Service, Inc.
- [2] Voelker D., Vess C., Tillmann M., Nagel R., Otto G.W., Geisler R., Schirmer K., Scholz S. (2007): Differential gene expression as a toxicant-sensitive endpoint in zebrafish embryos and larvae. *Aquatic Toxicology* 81, 355–364.
- [3] Smith L., Galloway T. (2006): Preparation of water accommodated fraction. School of Earth, Ocean and Environmental Sciences, University of Plymouth.
- [4] Braunbeck T., Boettcher M., Hollert H., Kosmehl T., Lammer E., Leist E., Rudolf M., Seitz N. (2005): Towards an alternative for the acute fish LC(50) test in chemical assessment: The fish embryo toxicity test goes multi-species – an update. *Altex* 22 (2), 87–102.

# 蛋白质模式揭示的对污染物的曝露



Marc Suter, 环境毒理学室化学家和小组负责人。  
联合作者: Ksenia Groh, Victor Nesatyy

蛋白质组分析不仅是医学领域有希望的一种方法。差不多十年来,它一直被应用于环境毒理学。这一方法揭示当生物曝露于环境污染物时哪些蛋白质被激发或被抑制。Eawag 现已为斑马鱼建立了这一方法。

由于鱼类一般无法避免其生境中不利的化学或物理变化的影响,所以它们被认为是地表水条件的看守物种。当鱼类曝露于化学压力时,其体内合适的防御就会被激活:特殊基因被表达,相关的蛋白质被合成。例如,当水被重金属污染时,会产生金属硫基因(金属结合蛋白质),或当存在有机污染物时,来自细胞色素 P450 族的蛋白质的合成就会被促进。

借助于蛋白质组学,可以研究鱼类对改变的环境条件的反应。这一方法涉及蛋白质组(一个细胞、组织或生物基因组所表达的总的蛋白质组)分析,以便确定被激活或受抑制的蛋白质。近年来,这一吸引人的但复杂的方法(见专栏)已得到很大改进,但它仍构成许多挑战<sup>[1]</sup>。我们的目的是进一步改进这一方法,并为了 Eawag 的生态毒理学研究目的而建立它。我们集中研究了斑马鱼,因为它的基因组已被完全排序,所以所有蛋白质在理论上都是可确定的。

**确定更多的蛋白质** 蛋白质组分析的一个严重的方法学难题是,所有蛋白质中只有小部分蛋白质的表达因接触污染物而发生的改变是能被确认的。这是因为应化学应力而产生的蛋白质经常只是少量存在,而且被较高浓度时出现的管家蛋白质如结构蛋白质所掩盖。

我们的斑马鱼实验表明,所确定的总共 900 种蛋白质中绝大部分属于卵黄蛋白原族,从而妨碍了干扰中损失的其他重要蛋白质的检测。所以我们研究是否能增加这类蛋白质的数量,即通过在蛋白质提取之前从斑马鱼幼体中去除卵黄囊可以确定的蛋白质。归根到底,卵黄蛋白原主要出现在母体形成的器官中。这一方法证明是高度成功的,因为随后确定的蛋白质一览表实际上不包

括卵黄蛋白原,而且所检测的蛋白质总数从 900 增加到 1200。

我们通过提取物的生物分馏设法获取了数量更多的可鉴别的蛋白质(总共 2700 种)。就这一方法而论,一

## 蛋白质组分析原理

蛋白质组分析是对特定条件下给定时间一种细胞、组织或生物中存在的整套蛋白质进行表征。在我们的实验室中,我们对未处理过的或曝露于污染物的斑马鱼的蛋白质表达方式感兴趣。为了分析这些表达模式,在孵化期之后,从鱼体中提取蛋白质,进行分离和排序。传统用于这一目的的方法是双向凝胶电泳:从凝胶删去各个点,对它们所含的蛋白质进行排序。不过,采用这一技术只能鉴别 50~100 种蛋白质。所以如今我们采用一种被称之为多向蛋白质确认技术(mudPIT)的方法<sup>[2]</sup>,该方法包括液体色质谱联用。在这里,首先用胰蛋白酶消化蛋白质,产生较小的碎片。所产生的肽被两个具有不同性质的、相连的柱体上的液体色谱所分离,并从盐浓度不断增加的柱体中依次洗提(图 1)。最后,用质谱仪确定肽的氨基酸序列。然后就能通过将这些序列与斑马鱼序列数据库加以比较来确定相关的蛋白质。确定 95%的可测定蛋白质需要 8~10 次 mudPIT 实验(图 2A)。

种可买到的萃取包被用来在进一步分析膜、核和细胞质蛋白质之前对它们进行分离(图 2B)。

**改进再现性和缩短所需时间** 蛋白质组分析存在的其他问题一直是,再现性差以及确定尽可能多的被污染物激发或抑制的蛋白质所需的大量的时间投入。确认 95%的可测定蛋白质需要大约 10 次 mudPIT 实验(见专栏)<sup>[3]</sup>。由于一次这种实验耗时 24 小时,所以单独一个样品的分析可能至少需要 10 天时间。然而所需时间量并不是唯一不满意的方面,另外,这 10 次重复实验常常得出极为不同的结果(图 2A)。所以我们试图寻找一条在这方面改进该方法的途径。

典型的 mudPIT 分析仅考虑双电荷和三电荷的肽,在蛋白质提取物的胰蛋白酶消化之后,肽是很多的。迄今为止,单电荷分子一直被排除在排序之外,因为它们经常包括没有蛋白质排序信息的基质离子。但现已证明,采用我们的方法的确值得对单电荷离子加以考虑。就来自肌凝蛋白(肌肉纤维的运动原蛋白质)重链的一种肽的实例而言,图 3 显示单电荷分子仅稍弱于双电荷分子,而三电荷离子在没有 374.3 m/z(m/z=分子的质量与电荷比)推近的情况下是不可见的。不过,如果要尽可能明确地确定肽的排序,那么信号就必须与噪音明确可辨。因此,只考虑双电荷和三电荷离子时确认的蛋白质的数目,大大低于也包括单电荷肽时的蛋白质数目(图 2C)。

总之,我们的分析方法中包括单电荷肽证明是有益的。不仅重现性明显改善,而且现在 3~4 次重复实验就

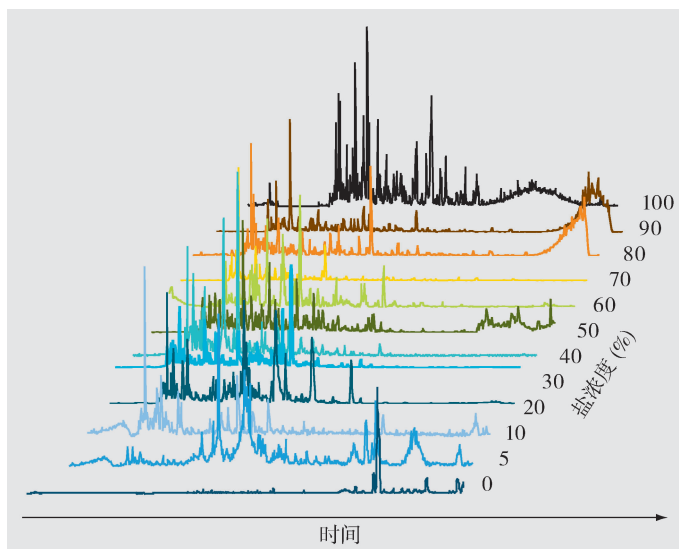
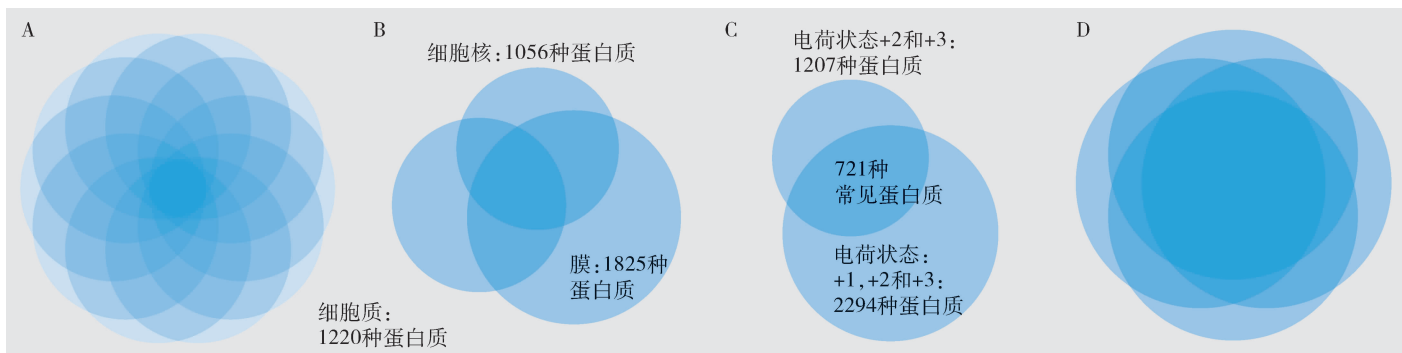


图 1 肽通过两个相连柱体上的液体色谱进行分离,然后通过不断增加的盐浓度进行洗提

足以鉴别 95%的可测蛋白质(图 2D)。所以分析一个样品所需的时间缩短到 3~4 天。

**这种精确方法的初步经验** 环境蛋白质组的建立是挑战性的,但在 Eawag 现已大部分完成了。这种方法对我们生态毒理学研究是极具吸引力的,因为它不仅可以深入了解毒性作用的基本机理,而且还能确认那些可充当暴露于特定污染物或一组组污染物的生物标记的蛋白质。上文提到的解毒酶和卵黄蛋白质卵黄原蛋白属如今已应用的生物标记物之列,当暴露于内分泌干扰物

图 2 蛋白质组分析可以确认的蛋白质的数目。每一个圆代表单独一次 mudPIT 实验。圆重叠得越多,重现性就越大。A:分析蛋白质组平均需要 8~10 次 mudPIT 实验;B:生物碎片可以让更多的蛋白质得以确认;C:包括单电荷肽可增加被确认蛋白质的数目;D:采用我们的技术,现在蛋白质组分析只需 3~4 次 mudPIT 实验





Martina Bauchrowitz, Eawag

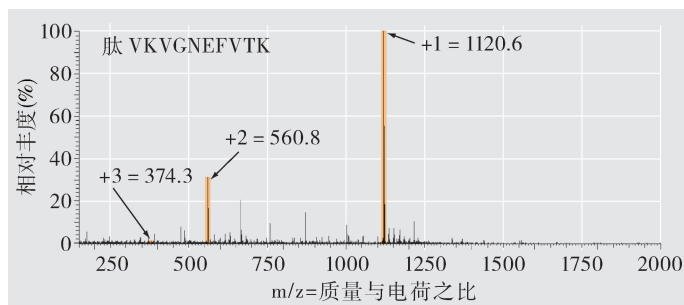
Eawag 的科学家 Victor Nesatyy 在质谱仪前

时,卵黄蛋白原会被激发<sup>[4]</sup>。

初步的实验已证明,与未处理的鱼相比,曝露于 1 $\mu$ M 镉的斑马鱼的蛋白质表达模式发生重大变化。例如,与对照物相比,肌凝蛋白重链浓度升高。另外,我们可以在遗传水平上观察到相同效应:曾用含有重金属的原油孵化的斑马鱼幼体中的肌凝蛋白基因的表达被激发。在这两种情况下,斑马鱼幼体还呈现出弯曲的尾巴——对毒药的一种典型反应。

同样,蛋白质组分析被用来证实对雌性激素雌二醇的曝露导致卵黄原蛋白的增加。我们目前还将这一方法用于 GENEZIS(瑞士国家科学基金会资助的一个项目),该项目是研究斑马鱼性别决定和变异的机理。既然 Eawag 已建立了这一方法,它就可以毫无重大困难地应用于其他生物如细菌或绿藻。

图 3 来自肌凝蛋白重链的一种肽的质谱图,详情见文



- [1] Nesatyy V.J., Suter M.J.F. (2007): Proteomics for the analysis of environmental stress responses in organisms. *Environmental Science and Technology* 41, 6891–6900.
- [2] Washburn M.P., Wolters D., Yates J.R. (2001): Large-scale analysis of the yeast proteome by multidimensional protein identification technology. *Nature Biotechnology* 19, 242–247.
- [3] Durr E., Yu J.Y., Krasinska K.M., Carver L.A., Yates J.R., Testa J.E., Oh P., Schnitzer J.E. (2004): Direct proteomic mapping of the lung microvascular endothelial cell surface *in vivo* and in cell culture. *Nature Biotechnology* 22, 985–992.
- [4] Vermeirssen E.L.M., Burki R., Joris C., Peter A., Segner H., Suter M.J.F., Burkhardt-Holm P. (2005): Characterization of the estrogenicity of Swiss midland rivers using a recombinant yeast bioassay and plasma vitellogenin concentrations in feral male brown trout. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24, 2226–2233.

A complete list and pdf files of all Eawag publications are available: [http://library.eawag-empa.ch/eawag\\_publications.html](http://library.eawag-empa.ch/eawag_publications.html)  
Search for author, title or keyword. In case of problems: [library@eawag-empa.ch](mailto:library@eawag-empa.ch)

**Seehausen O.** (2007): Evolution and ecological theory – Chance, historical contingency and ecological determinism jointly determine the rate of adaptive radiation. *Heredity* 99 (4), 361–363.

**Yang J., Reichert P., Abbaspour K.C.** (2007): Bayesian uncertainty analysis in distributed hydrologic modeling: A case study in the Thur River basin (Switzerland). *Water Resources Research* 43 (10), Article number W10401.

**Hudson A.G., Vonlanthen P., Müller R., Seehausen O.** (2007): Review: The geography of speciation and adaptive radiation in coregonines. *Advances in Limnology* 60, 111–146.

**Eckmann R., Gerdeaux D., Müller R., Rösch R.** (2007): Re-oligotrophication and whitefish fisheries management – A workshop summary. *Advances in Limnology* 60, 353–360.

**Müller R.** (2007): The re-discovery of the vanished “Edelfisch” *Coregonus nobilis* Haack, 1882, in Lake Lucerne, Switzerland. *Advances in Limnology* 60, 419–430.

**Fette M., Weber C., Peter A., Wehrli B.** (2007): Hydropower production and river rehabilitation: A case study on an alpine river. *Environmental Modeling & Assessment* 12 (4), 257–267.

**Meierhofer R., Wegelin M.** (2007): Was braucht es, damit SODIS erfolgreich ist? *Revue Lion* 1, 6–7.

**Meierhofer R.** (2007): Auf dem Weg nach Afrika. Welche Projekte werden unterstützt? *Lion Revue*, 1 S.

**Meierhofer R.** (2007): Begeisterte Teilnehmer an SODIS-Ausbildungs-Workshop in Uganda. *Lion Revue*, 2 S.

**Birkenmaier A., Holert J., Erdbrink H., Moeller H.M., Friemel A., Schoenenberger R., Suter M.J.F., Klebensberger J., Philipp B.** (2007): Biochemical and genetic investigation of initial reactions in aerobic degradation of the bile acid cholate in *Pseudomonas sp* strain Chol1. *Journal of Bacteriology* 189 (20), 7165–7173.

**Nesatyy V.J., Suter M.J.F.** (2007): Proteomics for the analysis of environmental stress responses in organisms. *Environmental Science & Technology* 41 (20), 6891–6900.

**Tobias R., Würzebesser C., Mosler H.J.** (2007): A model of prospective memory and habit phenomena calibrated with dynamic field data. The 2007 European Simulation and Modelling Conference St. Julians, Malta, October 22–24, 373–380.

**Mosler H.J., Tobias R.** (2007): How do commitments work? An agent based simulation using data from a recycling campaign in Santiago de

**Cuba. The 2007 International Conference on Artificial Intelligence, Las Vegas, USA, June 25–28, 6 pp.**

**Klump S., Tomonaga Y., Kienzler P., Kinzelbach W., Baumann T., Imboden D.M., Kipfer R.** (2007): Field experiments yield new insights into gas exchange and excess air formation in natural porous media. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 71 (6), 1385–1397.

**McCracken K.G., Beer J.** (2007): Long-term changes in the cosmic ray intensity at Earth, 1428–2005. *Journal of Geophysical Research* 112 (A10), Article number A10101, 15 pp.

**Wang Y., Hammes F., Boon N., Egli T.** (2007): Quantification of the filterability of freshwater bacteria through 0.45, 0.22, and 0.1 µm pore size filters and shape-dependent enrichment of filterable bacterial communities. *Environmental Science & Technology* 41 (20), 7080–7086.

**Ibelings B.W., Chorus I.** (2007): Accumulation of cyanobacterial toxins in freshwater “seafood” and its consequences for public health: A review. *Environmental Pollution* 150 (1), 177–192.

**Larsen T.A., Maurer M., Udert K.M., Lienert J.** (2007): Nutrient cycles and resource management: Implications for the choice of wastewater treatment technology. *Water Science and Technology* 56 (5), 229–237.

**Lienert J., Bürki T., Escher B.I.** (2007): Reducing micropollutants with source control: Substance flow analysis of 212 pharmaceuticals in faeces and urine. *Water Science and Technology* 56 (5), 87–96.

**Pronk W., Zuleeg S., Lienert J., Escher B., Koller M., Berner A., Koch G., Boller M.** (2007): Pilot experiments with electrodialysis and ozonation for the production of a fertiliser from urine. *Water Science and Technology* 56 (5), 219–227.

**Kunz Y., Pohl J., Langhans S.D.** (2007): Uferbezogene Indikatoren – Neue Ansätze zur Fließgewässerbewertung. *Wasser Energie Luft* 99 (1), 71–74.

**Koné D., Cofie O., Zurbrügg C., Gallizzi K., Moser D., Drescher S., Strauss M.** (2007): Helminth eggs inactivation efficiency by faecal sludge dewatering and co-composting in tropical climates. *Water Research* 41 (19), 4397–4402.

**Doering M., Uehlinger U., Rotach A., Schlapfer D.R., Tockner K.** (2007): Ecosystem expansion and contraction dynamics along a large Alpine alluvial corridor (Tagliamento River, Northeast Italy). *Earth Surface Processes and Landforms* 32 (11), 1693–1704.

**Alder A.C., Bruchet A., Carballa M., Clara M., Joss A., Löffler D., McArdell C.S., Miksch K., Omil F., Tuhkanen T., Ternes T.A.** (2006): The challenge of micropollutants in urban water management (Chapter 2). In: Ternes T.A., A. Joss (Eds.) *Human Pharmaceuticals, Hormones and Fragrances: The challenge of micropollutants in urban water management*. IWA Publishing, London, UK, 15–54.

**Efimov A.E., Tonevitsky A.G., Dittrich M., Matsko N.B.** (2007): Atomic force microscope (AFM) combined with the ultramicrotome: a novel device for the serial section tomography and AFM/TEM complementary structural analysis of biological and polymer samples. *Journal of Microscopy* 226 (3), 207–217.

**Müller B., Stöckli A., Stierli R., Butscher E., Gächter R.** (2007): A low cost method to estimate dissolved reactive phosphorus loads of rivers and streams. *Journal of Environmental Monitoring* 9 (1), 82–86.

**Muscheler R., Joos F., Beer J., Müller S.A., Vonmoos M., Snowball I.** (2007): Solar activity during the last 1000 yr inferred from radionuclide records. *Quaternary Science Reviews* 26 (1–2), 82–97.

**Robinson C.T., Buser T.** (2007): Density-dependent life history differences in a stream mayfly (*Deleatidium*) inhabiting permanent and intermittent stream reaches. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 41 (3), 265–271.

**Vonlanthen P., Excoffier L., Bittner D., Persat H., Neuenschwander S., Largiadèr C.R.** (2007): Genetic analysis of potential postglacial watershed crossings in Central Europe by the bullhead (*Cottus gobio* L.). *Molecular Ecology* 16 (21), 4572–4584.

**Wittmer D., Lichtensteiger T.** (2007): Development of anthropogenic raw material stocks: A retrospective approach for prospective scenarios. *Minerals and Energy – Raw Materials Report* 22 (1–2), 62–71.

**Dytczak M.A., Londry K.L., Siegrist H., Oleszkiewicz J.A.** (2007): Ozonation reduces sludge production and improves denitrification. *Water Research* 41 (3), 543–550.

**Hölker F., Dörner H., Schulze T., Haertel-Borer S.S., Peacor S.D., Mehner T.** (2007): Species-specific responses of planktivorous fish to the introduction of a new piscivore: implications for prey fitness. *Freshwater Biology* 52 (9), 1793–1806.

**Kwon J., Liljestran H.M., Katz L.E., Yamamoto H.** (2007): Partitioning thermodynamics of selected endocrine disruptors between water and synthetic membrane vesicles: Effects of membrane

compositions. *Environmental Science & Technology* 41 (11), 4011–4018.

**Ort C., Siegrist H., Hosbach H., Studer C., Morf L., Scheringer M.** (2007): Mikroverunreinigungen. Nationales Stoffflussmodell. GWA Gas, Wasser, Abwasser 87 (11), 853–859.

**Hollender J., McArdell C.S., Escher B.I.** (2007): Mikroverunreinigungen. Vorkommen in Gewässern der Schweiz. GWA Gas, Wasser, Abwasser 87 (11), 843–852.

**Cirja M., Zuehlke S., Ivashechkin P., Hollender J., Schäffer A., Corvini P.F.X.** (2007): Behavior of two differently radiolabelled  $^{17}\beta$ -ethynylestradiols continuously applied to a laboratory-scale membrane bioreactor with adapted industrial activated sludge. *Water Research* 41 (19), 4403–4412.

**Lienert J., Larsen T.A.** (2007): Soft paths in wastewater management – the pros and cons of urine source separation. *GAIA* 16 (4), 280–288.

**Zeidenitz C., Mosler H.J., Hunziker M.** (2007): Outdoor recreation: From analysing motivations to furthering ecologically responsible behaviour. *Forest Snow and Landscape Research* 81 (1–2), 175–190.

**Herlyn A., Maurer M.** (2007): Status quo der Schweizer Abwasserentsorgung. Kosten, Zustand und Investitionsbedarf. GWA Gas, Wasser, Abwasser 87 (3), 171–176.

**Herlyn A., Maurer M.** (2007): Was ARA und Kanalisation kosten. *Umwelt Perspektiven* 2007 (1), 20–21.

**Stamm C., Frey M., Reichert P.** (2007): Managing critical source areas to reduce diffuse herbicide losses – prospects and limitations. A Swiss case study. AFPP – Protection des eaux de surface contre les transferts diffuse de produits phytosanitaires, Paris, France, November 15–16, 2007, 8 pp.

**Baccini P., Baumgartner F., Lichtensteiger T., Michaeli M., Thalmann E.** (2007): Urbane Schweiz. In: Anonymous Klimaänderung und die Schweiz 2050. OcCC/ProClim, Bern, Schweiz, 123–136.

**Siegrist H., Joss A.** (2007): Mikroverunreinigungen. Technische Verfahren zur Elimination. GWA Gas, Wasser, Abwasser 87 (11), 861–867.

**Siegrist H., Salzgeber D., Eugster J., Joss A.** (2007): Anammox brings WWTP closer to energy autarky due to increased biogas production and reduced aeration energy for N-removal. 11<sup>th</sup> World Congress on Anaerobic Digestion (AD11), Brisbane, Australia, September 24–27, 2007, 7 pp.

**Siegrist H., Joss A., Ternes T.** (2007): Fate of micropollutants in drinking and wastewater treatment and consequences for process design. 4<sup>th</sup> Leading Edge Conference on Water and Wastewater Technologies, Singapore, 3–6 June, 2007, 8 pp.

**Menon M., Robinson B., Oswald S.E., Kaestner A., Abbaspour K.C., Lehmann E., Schulin R.** (2007): Visualization of root growth in heterogeneously contaminated soil using neutron radiography. *European Journal of Soil Science* 58 (3), 802–810.

**Salzgeber D., Joss A., Siegrist H.** (2007): Autotrophe Schlammwasserentstickung (Nitritation/Anammox). Im SBR-Verfahren (Sequencing batch reactor). GWA Gas, Wasser, Abwasser 87 (3), 205–209.

**Herlyn A., Maurer M.** (2007): Zustand und Investitionsbedarf der Schweizer Abwasserentsorgung. *Schweizer Gemeinde* 44 (11; Nr. 441), 14–17.

**Winkel L., Alxneit I., Sturzenegger M.** (2007): New paths for a SO<sub>2</sub>-free copper production. *Minerals Engineering* 20 (12), 1179–1183.

**Deplazes G., Anselmetti F.S.** (2007): Auf den Spuren des Flimsler Bergsturzes in Lag La Cauma und Lag Grond. *Geosciences ACTUEL* 2007 (3), 46–50.

**Liu J., Williams J.R., Zehnder A.J.B., Yang H.** (2007): GEPIC – modelling wheat yield and crop water productivity with high resolution on a global scale. *Agricultural Systems* 94 (2), 478–493.

**Liu J., Wiberg D., Zehnder A.J.B., Yang H.** (2007): Modeling the role of irrigation in winter wheat yield, crop water productivity, and production in China. *Irrigation Science* 26 (1), 21–33.

**Liu J.** (2007): Modelling global water and food relations – development and application of a GIS-based EPIC model. Dissertation 17069, ETH-Zürich, Switzerland, 118 pp.

**Liu J., Zehnder A.J.B., Yang H.** (2007): Drops for crops: modelling crop water productivity on a global scale. Proceedings of the 10th International Conference on Environment Science and Technology, Kos island, Greece, September 5–7, 2007, A-835–A-842.

**Robinson C.T., Hieber M., Wenzelides V., Lods-Crozet B.** (2007): Macroinvertebrate assemblages of a high elevation stream/lake network with an emphasis on the Chironomidae. *Fundamental and Applied Limnology* 169 (1), 25–36.

**Chèvre N., Loepfe C., Fenner K., Singer H., Escher B.** (2007): Pesticides dans les eaux superficielles de Suisse. GWA Gas, Wasser, Abwasser 87 (7), 529–539.

**Canonica S.** (2007): Oxidation of aquatic organic contaminants induced by excited triplet states. *Chimia* 61 (10), 641–644.

**Nozhevnikova A.N., Nekrasova V., Ammann A., Zehnder A.J.B., Wehrli B., Holliger C.** (2007): Influence of temperature and high acetate concentrations on methanogenesis in lake sediment slurries. *FEMS Microbiology Ecology* 62 (3), 336–344.

**Hoehn E.** (2007): Überwachung der Auswirkung von Flussaufweitungen auf das Grundwasser mittels Radon. *Grundwasser* 12 (31), 66–72.

**Hoehn E., Cirpka O., Hofer M., Zobrist J., Kipfer R., Baumann M., Scholtis A., Favero R.** (2007): Untersuchungsmethoden der Flussinfiltration. GWA Gas, Wasser, Abwasser 87 (7), 497–505.

**Markard J.** (2007): E-Track: Entwicklung eines Standards. Wie sich Eigenschaften der Stromerzeugung in Europa verfolgen und bilanzieren lassen. *Bulletin SEV/VSE* Jg. 98 (16), 28–31.

**Moser R., McArdell C.S., Weissbrodt D.** (2007): Mikroverunreinigungen. Vorbehandlung von Spitalabwasser. GWA Gas, Wasser, Abwasser 87 (11), 869–875.

**Reichert P., Borsuk M.E., Hostmann M., Schweizer S., Spörri C., Tockner K., Truffer B.** (2007): Concepts of decision support for river rehabilitation. *Environmental Modelling & Software* 22 (2), 188–201.

**Heimerl S., Kohler B., Ruef A., Markard J., Schneider M.F.K., Wieprecht S.** (2007): Machbarkeitsstudie für Grün-Strom-Zertifizierung aus Wasserkraft für Deutschland abgeschlossen. *Wasserwirtschaft* 97 (5), 39–40.

**Flichakova N., Bader H. P., Scheidegger R., Robinson D., Scartezzini J.-L.** (2007): Urban district energy futures: A dynamic material flow analysis (MFA) model. Proceedings of Renewables in a changing Climate Innovation in the built environment CISBAT, Lausanne, Switzerland, September 4–5, 585–590.

**Bader H. P., Scheidegger R., Real M.** (2007): Photovoltaic energy on a global scale: Dynamic modelling of implementation and costs. Proceedings of Renewables in a changing Climate Innovation in the built environment CISBAT, Lausanne, Switzerland, September 4–5, 541–546.

**Seyler C., Oetjen L., Bader H.P., Scheidegger R., Kytzia S.** (2007): Potentials for mineral construction wastes as secondary resources in Switzerland – case study on concrete wastes. Congress Proceedings of the R'07 World Congress on Recovery of Material and Energy for Resource Efficiency, Davos, Switzerland, September 3–5, 6 pp.

**Buser A., Morf L., Taverna R., Bader H.P., Scheidegger R.** (2007): Temporal behaviour of the anthropogenic metabolism of selected brominated flame retardants: Emissions to the environment. 4<sup>th</sup> International Workshop on Brominated Flame Retardants, Amsterdam, The Netherlands, April 24–27, 4 pp.

**Kwonpongsagoon S., Scheidegger R., Bader H.P.** (2007): Modeling the cadmium flows in Australia. Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Conference on Asian Simulation and Modelling (ASIMMOD) Chian Mai, Thailand, January 9–11, 364–370.

- Bader H.P., Scheidegger R., Gujer W., Huang D.** (2007): Modellierungsunterstützte Suche nach neuen Lösungen für das Abwassermanagement in Kunming (China). Simulation in Umwelt- und Geowissenschaften, Workshop, Berlin, Deutschland, 22.–23. März, 61–70.
- Huang D., Bader H.P., Scheidegger R., Schertenleib R., Gujer W.** (2007): Confronting limitations: New solutions required for urban water management in Kunming City. *Journal of Environmental Management* 84 (1), 49–61.
- Bluemling B., Yang H., Pahl-Wostl C.** (2007): Making water productivity operational – A concept of agricultural water productivity exemplified at a wheat-maize cropping pattern in the North China plain. *Agricultural Water Management* 91 (1–3), 11–23.
- Gabriel F.L.P., Cyris M., Giger W., Kohler H.P.E.** (2007): ipso-Substitution: A General Biochemical and Biodegradation Mechanism to Cleave  $\alpha$ -Quaternary Alkylphenols and Bisphenol A. *Chemistry & Biodiversity* 4 (9), 2123–2137.
- Borer P.M., Hug S.J., Sulzberger B., Kraemer S.M., Kretzschmar R.** (2007): Photolysis of citrate on the surface of lepidocrocite: An *in situ* attenuated total reflection infrared spectroscopy study. *Journal of Physical Chemistry C* 111 (28), 10560–10569.
- Roberts L.C., Hug S.J., Dittmar J., Voegelin A., Saha G.C., Ali M.A., Badruzzaman A.B.M., Kretzschmar R.** (2007): Spatial distribution and temporal variability of arsenic in irrigated rice fields in Bangladesh. 1. Irrigation water. *Environmental Science & Technology* 41 (17), 5960–5966.
- Dittmar J., Voegelin A., Roberts L.C., Hug S.J., Saha G.C., Ali M.A., Badruzzaman A.B.M., Kretzschmar R.** (2007): Spatial distribution and temporal variability of arsenic in irrigated rice fields in Bangladesh. 2. Paddy soil. *Environmental Science & Technology* 41 (17), 5967–5972.
- Katsoyiannis I.A., Hug S.J., Ammann A., Zikoudi A., Hatziliontos C.** (2007): Arsenic speciation and uranium concentrations in drinking water supply wells in Northern Greece: Correlations with redox indicative parameters and implications for groundwater treatment. *Science of the Total Environment* 383 (1–3), 128–140.
- Miniaci C., Bunge M., Duc L., Edwards I., Bürgmann H., Zeyer J.** (2007): Effects of pioneering plants on microbial structures and functions in a glacier forefield. *Biology and Fertility of Soils* 44 (2), 289–297.
- Neretin L.N., Abed R.M.M., Schippers A., Schubert C.J., Kohls K., Kuypers M.M.M.** (2007): Inorganic carbon fixation by sulfate-reducing bacteria in the Black Sea water column. *Environmental Microbiology* 9 (12), 3019–3024.
- Störmer E., Wegelin C., Truffer B.** (2007): Lokale Systeme unter globalen Einflüssen langfristig planen. “Regional Infrastructure Foresight” als Ansatz zum Umgang mit Unsicherheiten bei Abwasserinfrastruktursystemen. In: Bora A., S.Bröchler, M. Decker (Eds.) *Technology Assessment in der Weltgesellschaft*. Edition Sigma, Berlin, Deutschland, 123–132.
- Bontes B.M., Verschoor A.M., Pires L.M.D., van Donk E., Ibelings B.W.** (2007): Functional response of *Anodonta anatina* feeding on a green alga and four strains of cyanobacteria, differing in shape, size and toxicity. *Hydrobiologia* 584, 191–204.
- Störmer E.** (2007): Strategieplanung für Abwasserentsorgung. *Umwelt Perspektiven* 2007 (5), 12–16.
- Schubert U., Störmer E.** (Eds.) (2007): Sustainable development in Europe. Concepts, evaluation and application. In: Martinuzzi A., P. Hardi (Eds.) *Evaluating sustainable development*. Edward Elgar Publishing, Cheltenham UK and Northampton (MA) USA, 368 pp.
- Muscheler R., Joos F., Beer J., Müller S.A., Vonmoos M., Snowball I.** (2007): Reply to the comment by Bard et al. on “Solar activity during the last 1000 yr inferred from radionuclide records”. *Quaternary Science Reviews* 26 (17–18), 2304–2308.
- Renn O., Dreyer M., Klinke A., Schweizer P.J.** (2007): Systemische Risiken: Charakterisierung, Management und Integration in eine aktive Nachhaltigkeitspolitik. In: Anonymous *Soziale Nachhaltigkeit*, Metropolis, Marburg, 161–191.
- Heck T., Frank M., Anselmetti F.S., Kubick P.W.** (2007): Origin and age of submarine ferromanganese hardgrounds from the Marion Plateau, offshore northeast Australia. *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results* 194, Manuscript number 194SR-008 (22 pp.).
- Cheshenko K., Pakdel F., Segner H., Kah O., Eggen R.I.L.** (2008): Interference of endocrine disrupting chemicals with aromatase CYP19 expression or activity, and consequences for reproduction of teleost fish. *General and Comparative Endocrinology* 155 (1), 31–62.
- Bezault E., Clota F., Derivaz M., Chevassus B., Baroiller J.F.** (2007): Sex determination and temperature-induced sex differentiation in three natural populations of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) adapted to extreme temperature conditions. *Aquaculture* 272 (Supplement 1, Genetics in Aquaculture IX), S3–S16.
- Larned S., Datry T., Robinson C.T.** (2007): Invertebrate and microbial responses to inundation in an ephemeral river reach in New Zealand: effects of preceding dry periods. *Aquatic Sciences*, 14 pp.
- Ohlendorf C., Sturm M.** (2007): A modified method for biogenic silica determination. *Journal of Paleolimnology* 39 (1), 137–142.
- von Gunten L., Heiri O., Bigler C., van Leeuwen J., Casty C., Lotter A.F., Sturm M.** (2007): Seasonal temperatures for the past ~ 400 years reconstructed from diatom and chironomid assemblages in a high-altitude lake (Lej da la Tscheppa, Switzerland). *Journal of Paleolimnology Online First*, 17 pp.
- Blass A., Grosjean M., Livingstone D.M., Sturm M.** (2007): Signature of explosive volcanic eruptions in the sediments of a high-altitude Swiss lake. *Journal of Paleolimnology* 39 (1), 35–42.
- Wedekind C., Evanno G., Urbach D., Jacob A., Müller R.** (2007): “Good-genes” and “compatible-genes” effects in an Alpine whitefish and the information content of breeding tubercles over the course of the spawning season. *Genetica* 132 (2), 199–208.
- Kallivretaki E., Eggen R.I.L., Neuhauss S.C.F., Kah O., Segner H.** (2007): The zebrafish, brain-specific, aromatase *cyp19a2* is neither expressed nor distributed in a sexually dimorphic manner during sexual differentiation. *Developmental Dynamics* 236, 3155–3166.
- Matzinger A., Pieters R., Ashley K.I., Lawrence G.A., Wüest A.** (2007): Effects of impoundment on nutrient availability and productivity in lakes. *Limnology and Oceanography* 52 (6), 2629–2640.
- Kwon J.H., Lee H.K., Kwon J.W., Kim K., Park E., Kang M., Kim Y.H.** (2007): Mutagenic activity of river water from a river near textile industrial complex in Korea. *Environmental Monitoring and Assessment*.
- Witte F., Wanink J.H., Kische-Machumu M., Mkumbo O.C., Goudswaard P.C., Seehausen O.** (2007): Differential decline and recovery of haplochromine trophic groups in the Mwanza Gulf of Lake Victoria. *Aquatic Ecosystem Health & Management* 10 (4), 416–433.
- Seehausen O., Takimoto G., Roy D., Jokela J.** (2008): Speciation reversal and biodiversity dynamics with hybridization in changing environments. *Molecular Ecology* 17 (1), 30–44.
- Jacob A., Nusslé S., Britschgi A., Evanno G., Müller R., Wedekind C.** (2007): Male dominance linked to size and age, but not to “good genes” in brown trout (*Salmo trutta*). *BMC Evolutionary Biology* 7, Article number 207.
- Acuña V., Dahm C.N.** (2007): Impact of monsoonal rains on spatial scaling patterns in water chemistry of a semi-arid river network. *Journal of Geophysical Research* 112, Paper number G04009 (11 pp.).
- van der Sluijs I., van Alphen J.J.M., Seehausen O.** (2007): Preference polymorphism for coloration but no speciation in a population of Lake Victoria cichlids. *Behavioral Ecology Advance Access published online*, 7 pp.



- Robinson C.T., Matthaesi S.** (2007): Hydrological heterogeneity of an alpine stream-lake network in Switzerland. *Hydrological Processes* 21 (23), 3146–3154.
- Helle S., Helama S., Jokela J.** (2007): Temperature-related birth sex ratio bias in historical Sami: warm years bring more sons. *Biology Letters* First cite early online publishing, 3 pp.
- Pettay J.E., Helle S., Jokela J., Lummaa V.** (2007): Natural Selection on Female Life-History Traits in Relation to Socio-Economic Class in Pre-Industrial Human Populations. *PLoS ONE* 2 (7), e606 (9 pp.).
- Yang H., Zehnder A.J.B.** (2007): "Virtual water": An unfolding concept in integrated water resources management. *Water Resources Research* 43, Article number W12301 (10 pp.).
- Finger D., Schmid M., Wüest A.** (2007): Comparing effects of oligotrophication and upstream hydropower dams on plankton and productivity in perialpine lakes. *Water Resources Research* 43, Article number W12404 (27 pp.).
- Lienert J., Larsen T.A.** (2007): Pilot projects in bathrooms: a new challenge for wastewater professionals. *Water Practice & Technology* 2 (3).
- Dijkstra P.D., Seehausen O., Groothuis T.G.G.** (2007): Intrasexual competition among females and the stabilization of a conspicuous colour polymorphism in a Lake Victoria cichlid fish. *Proceedings of the Royal Society B FirstCite e-Publishing*, 8 pp.
- Burkhardt M., Rossi L., Boller M.** (2008): Diffuse release of environmental hazards by railways. *Desalination* 226, 106–113.
- Kwonpongsagoon S., Bader H.P., Scheidegger R.** (2007): Modelling cadmium flows in Australia on the basis of a substance flow analysis. *Clean Technologies and Environmental Policy* 9 (4), 313–323.
- Liu J., Zehnder A.J.B., Yang H.** (2007): Historical trends in China's virtual water trade. *Water International* 32 (1), 78–90.
- Liu J., Yang H., Zehnder A.J.B.** (2007): Simulation of crop water relations on large scales with high spatial resolutions. TIAS-GWSP workshop "Global Environmental Assessments: Bridging Scales and Linking to Policy", Issues in global water system research, No. 2, Adelphi, Maryland, USA, May 10–11, 2007, 44–48.
- Forster D., Bühler Y., Kellenberger T.W.** (2007): Object-oriented land cover/land use classification for upscaling agricultural nutrient budgets. In: Bill R. (Ed.) *GIS – Theory and Applications*, Textbook for the DAAD Summer School, Internal Report, Volume 16, Rostock University, Rostock, Germany, 177–188.
- Kracht O., Gresch M., Gujer W.** (2007): A stable isotope approach for the quantification of sewer infiltration. *Environmental Science and Technology* 41 (16), 5839–5845.
- Rieckermann J., Bares V., Kracht O., Braun D., Gujer W.** (2007): Estimating sewer leakage from continuous tracer experiments. *Water Research* 41 (9), 1960–1972.
- Huang D.B., Scholz R.W., Gujer W., Chitwood D.E., Loukopoulou P., Schertenleib R., Siegrist H.** (2007): Discrete event simulation for exploring strategies: An urban water management case. *Environmental Science and Technology* 41 (3), 915–921.
- Störmer E.** (2008): Greening as strategic development in industrial change – Why companies participate in eco-networks. *Geoforum* 39, 32–47.
- Tellenbach C., Wolinska J., Spaak P.** (2007): Epidemiology of a *Daphnia* brood parasite and its implications on host life-history traits. *Oecologia* 154 (2), 369–375.
- Truffer B., Markard J., Wüstenhagen R.** (2007): Eco-labeling of electricity – strategies and trade-offs in the definition of environmental standards. In: Teisl, M. (Ed.) *Labelling strategies in environmental policy*. Ashgate Publishing Limited, Hampshire, England, 353–365.
- Vermeirssen E.L.M., Asmin J., Escher B.I., Kwon J.H., Steimen I., Hollender J.** (2008): The role of hydrodynamics, matrix and sampling duration in passive sampling of polar compounds with Empore™ SDB-RPS disks. *Journal of Environmental Monitoring* 10 (1), 119–128.
- Boller M., Langbein S., Steiner M.** (2007): Characterization of road runoff and innovative treatment technologies. In: Morrison G.M., P. Rauch S. (Eds.) *Highway and urban environment – Proceedings of the 8<sup>th</sup> Highway and Urban Environment Symposium*, Springer, 441–452.
- Steiner M., Langbein S., Boller M.** (2007): Development and full-scale implementation of a new treatment scheme for road runoff. In: Morrison G.M., S. Rauch (Eds.) *Highway and Urban Environment – Proceedings of the 8<sup>th</sup> Highway and Urban Environment Symposium*, Springer, 453–463.
- Burkhardt M., Kasteel R., Vanderborght J., Vereecken H.** (2008): Field study on colloid transport using fluorescent microspheres. *European Journal of Soil Science* 59 (1), 82–93.
- Grünschloß L., Hanika J., Schwede R., Keller A.** (2007): (t, m, s)-Nets and maximized minimum distance. Monte Carlo and Quasi-Monte Carlo Methods 2006, Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Conference on Monte Carlo and Quasi-Monte Carlo Methods in Scientific Computing, Ulm, Germany, August 14–18, 2006, 397–412.
- Neuenschwander S., Largiadèr C.R., Ray N., Currat M., Vonlanthen P., Excoffiere L.** (2008): Colonization history of the Swiss Rhine basin by the bullhead (*Cottus gobio*): Inference under a Bayesian spatially explicit framework. *Molecular Ecology*.
- Thevenon F., Anselmetti F.S.** (2007): Charcoal and fly-ash particles from Lake Lucerne sediments (Central Switzerland) characterized by image analysis: anthropologic, stratigraphic and environmental implications. *Quaternary Science Reviews* 26 (19–21), 2631–2643.
- Holzner C.P., McGinnis D.F., Schubert C.J., Kipfer R., Imboden D.M.** (2008): Noble gas anomalies related to high-intensity methane gas seeps in the Black Sea. *Earth and Planetary Science Letters* 265 (3–4), 396–409.
- Luo J., Cirkpa O.A., Dentz M., Carrera J.** (2008): Temporal moments for transport with mass transfer described by an arbitrary memory function in heterogeneous media. *Water Resources Research* 44, Article number W01502 (7 pp.).
- Hollender J., Singer H., Mcardell C.S.** (2008): Polar organic micropollutants in the water cycle. Dangerous pollutants (xenobiotics) in urban water cycle. Proceedings of the NATO Advanced Research Workshop on Dangerous Pollutants (Xenobiotics) in Urban Water Cycle, Lednice, Czech Republic, May 3–6, 2007, 103–116.
- Tuominen I., Pollari M., von Wobeser E.A., Tyystjärvi E., Ibelings B.W., Matthijs H.C.P., Tyystjärvi T.** (2008): Sigma factor SigC is required for heat acclimation of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *FEBS Letters* 582 (2), 346–355.
- Hammes F., Berney M., Wang Y., Vital M., Köster O., Egli T.** (2008): Flow-cytometric total bacterial cell counts as a descriptive microbiological parameter for drinking water treatment processes. *Water Research* 42 (1–2), 269–277.
- Mieleitner J., Reichert P.** (2008): Modelling functional groups of phytoplankton in three lakes of different trophic state. *Ecological Modelling* 211 (3–4), 279–291.
- Aeppli C., Berg M., Hofstetter T.B., Kipfer R., Schwarzenbach R.P.** (2008): Simultaneous quantification of polar and non-polar volatile organic compounds in water samples by direct aqueous injection-gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1181 (1–2), 116–124.
- Tobias R., Mosler H.J.** (2007): Einsatz der Computersimulation in der Umweltpsychologie. *Umweltpsychologie* 11 (2), 22–37.
- Steinhilber F., Abreu J.A., Beer J.** (2008): Solar modulation during the Holocene. *Astrophysics and Space Sciences* 1 (4), 1–6.
- Lively C.M., Delph L.F., Dybdahl M.F., Jokela J.** (2008): Experimental test for a co-evolutionary hotspot in a host–parasite interaction. *Evolutionary Ecology Research* 10, 95–103.

# Eawag 衍生公司： 地表径流的无害化管理

两年前, Michele Steiner 克服胆怯, 成立了他自己的公司: wst21——21 世纪水、战略与技术。

对于 ETH 教育出的环境工程师 Michele Steiner 来说, 离开 Eawag 研究“庇护”环境的决策决不容易。不过, 2005 年底在其 Eawag 的导师 Markus Boller 教授鼓励下, Steiner 冒险尝试, 成立了他自己的公司——wst21。虽然他有很多新东西要学——从市场运销和公司设计, 通过选择一个合法的公司形式, 确保进入商业注册和取得保险, 一直到兜揽生意和签订合同——Steiner 从挑战中获得乐趣, 而且感到充分准备好应付它们, 多亏了他作为学生和研究科学家所获得的经验。

**wst21——21 世纪水、战略与技术** wst21 业务的主要目的是, 将技术解决办法的制定与城市水管理战

略相结合。除了屋顶和建筑物正面的水之外, 主要集中点还放在道路径流上。例如, 目前 wst21 正在 Attinghallen 的一个道路径流处理设施处进行监测。在这里, 来自 St Gotthard 高速公路 2 公里长路段的排水被收集。该公司正在研究这一装置的性能和尺寸是否最佳, 以便未来安装同类设施时能节省成本。另外, wst21 正在监测运行和处置安排, 以便提供问题答案, 例如: 砂和吸附材料层何时需要再生或处置? 多少时候需要清理一次管道和抽出污泥? 除了根据与社区、州和联邦级公共当局的合同运作之外,

wst21 还为工程技术人员、规划师和私人客户提供服务。

**成功地单独运行** 在这一派生公司成立之前, Eawag 为这一初露头角的企业家提供了技术支持和行政支持。另外, 最初两年的开办从 Eawag 的低租办公设施和基础设施方面获益。这些好处受到高度重视, Michele Steiner 打算未来保持与该机构及其研究人员的联系。自 2007 年 12 月以来, 现由 4 名成员组成的 wst21 一直以苏黎世技术园为基地。 [www.wst21.ch](http://www.wst21.ch)

**了解你自己的能力和向他人学习, 这对于成功的合作是非常重要的。**

○○○

Martina Ballchrowitz

St Gotthard 高速公路上的一个道路径流处理设施: 使用这里所获取的监测数据, wst21 正在为确定未来装置的尺寸奠定一个科学基础



## 丰富的经历



Michele Steiner 1997 年加盟 Eawag。他的第一个项目(文献调研)是关于用于去除屋顶和建筑物正面径流中重金属如铜和锌的潜在吸附剂的评估。他随后论文的题目是这些材料的效果及其实际可用性的实验验证。一个由与石灰砂混合的颗粒氢氧化铁组成的过滤系统被证明特别合适, 而且已成功地用于若干用途, 例如用于 Wabern(伯尔尼州)的联邦计量局(METAS)新的包铜建筑物。在一个博士后项目中, Michele Steiner 还研究了来自高速公路和其他繁忙公路的受污染径流的处理。这一研究的目的是研制能在较小面积范围内提供高水平运行性能的技术流程, 还要精心制定监测规划, 这些监测规划将使这些创新性系统的性能得到评估。

# 新的应用生态毒理学中心

在瑞士,应更密切地研究化学品所构成的风险——这是联邦委员会和议会得出的结论。Eawag 现正在与联邦洛桑技术研究所(EPFL)合作建立一个新的应用生态毒理学中心。

联邦委员会在 2007 年 5 月发表的一篇关于瑞士独立的毒理学研究的报告中的结论是,大学方面现有的资源和结构不足以为评价化学品对健康、安全和环境所构相关风险奠定一个科学基础。自从 2001 年 6 月位于施瓦岑巴赫的技术研究所(该研究所一直是由苏黎世联邦理工学院和苏黎世大学联合运作的)关闭以来,这一问题已变得更为尖锐。2007 年 10 月获得瑞士议会的批准,Eawag 现在可以与 EPFL 合伙建立一个生态毒理学中心。

**贴近研究、教学和实践** 依靠每年 200 万瑞士法郎的公共资金,该应用生态毒理学中心将发挥 3 种基本功能:

► **技术情报交换所:** 该中心将监测国内和国际应用生态毒理学方面的发展,定期与实践者和学术界的代表讨论目前正在出现的问题以及潜在的解决办法。

► **研究与开发:** 努力将集中在研发例如用于检测生态毒性效应的省钱省时的检测方法、化学分析方法以及用于模拟化合物风险的用户友好型系统。

► **信息平台:** 该中心将在科学期刊上发表重要的发现,并使信息上网、上简报、上媒介论文集以及以专业人士和学生继续教育活动的形式出现。另外,作为一个公共服务的联

系点,它将回答技术咨询。

**以 Dübendorf 和洛桑为基地** 该生态毒理学中心的建设是由 Eawag 副所长 Rik Eggen 教授领导的一个国家特别工作组规划和监督的。这一新的机构基于 Dübendorf 的 Eawag(大约 6 名工作人员)和洛桑 EPF(大约 3 名工作人员)。虽然

Dübendorf 的研究将集中于水生生态毒理学问题,但洛桑站点将主要涉及陆地生态毒理学。该生态毒理学中心也将开展合同研究,但将不与私方竞争。它将在没有中立专家评价或特殊能力的情况下提供服务。

○○○

Martina Bauchowitz

## 向新的生态毒理学中心负责人提的 3 个问题



新的生态毒理学中心的负责人是生物学家 Almut Gerhardt,她是 2008 年 6 月 1 日担任此职的。除了从事水生生态毒理学学术职业之外,Almut Gerhardt 还成立和管理着她自己的公司——LimCo International。

**是什么使这一新职位吸引您?**

研发一些新东西的机会具有首创重要性,这对我有吸引力。我也被这项任务所吸引;开展应用生态毒理学研究,与此同时研发具体产品如用于化学品评价以及用于生态毒理学水监测的灵敏的试验方法。最后但并非最不重要的是,我们可以将实践定向的知识传输给学生和用户,从而分辨未来的方向。

**什么使该新中心的活动不同于大学或私方的活动?**

通过镶嵌在 ETH 校园内,该中心正好位于研究的中心。它可以直接获取研究结果,并在这些良好的基础研发实际产品。我想尤其是毒性试验、风险评估软件或教学材料。相比之下,大学的力量在于基础研究,私人公司的产品研发完全是市场导向的。这一新的独立的中心显然在这方面有更大的自由度。

**您打算尽快启动什么研究项目?**

现有关于有毒物质效应定向的评价项目将会继续和扩大。与此同时,我们想启动新的多学科项目。一个特殊实例是,研发一种所谓的多度量探测平台,作为用于水体日常监测的早期警报系统。这应能同时检测生物参数、化学参数和物理参数,并将它们与生态参数相结合。

# 简讯

2008年9月12日: Eawag 信息日

## 从源头到水龙头—— 当今和未来优质饮用水

饮用水的数量和质量取决于取水的源头。今年信息日将与这一关系的各个方面有关,考虑这样一些问题,例如:地表水对于地下水保护有什么重要意义?如何才能在全球级评估地球成因污染的风险?另外,在这一活动中将归纳 Eawag 交叉项目 Wave21(21 世纪的饮用水)的主要研究结果。演示和介绍还将包括用于评估饮用水安全和去除有机微量污染物的新方法以及饮用水处理新方法。  
大会语言: 德语 [infotag@eawag.ch](mailto:infotag@eawag.ch)

## 长江考察

最近,一个国际科学小组首次获得中国政府同意研究长江的水质。在参与的外国研究者中有 Eawag 的 Beat Müller 和 Michael Berg。数以百计的水样和沉积物样品被采集用于分析,结果是惊人的:虽然某些情况下污染物负荷很高,但中国“大动脉”的浓度一般是可以与世界其他大河中发现的浓度相比较的。这次考察的另一个目的是查明任何残存的白鳍豚——但不幸的是,这一物种可能已经灭绝了。

[www.eawag.ch/jangtse\\_EN](http://www.eawag.ch/jangtse_EN)



新的研究生课程

## 《水资源综合管理》

“联合国千年发展目标”之一是,到 2015 年,将无法获得安全饮用水的人口比例减少一半。为了实现这一目标,全球需要专家们采取一种针对水相关问题和减贫的综合方法。为此,自 2007 年以来,波恩应用科学、建筑、木材和市政工程大学与其他各大学、联邦机构、非政府组织和 Eawag 合伙提供了“水资源综合管理”研究生课程。  
进一步信息:[www.ahb.bfh.ch/ahb/en/Weiterbildung/ndk](http://www.ahb.bfh.ch/ahb/en/Weiterbildung/ndk)

## 活 动

Eawag 信息日

2008 年 9 月 12 日, Dübendorf Eawag

Vom Gewässer ins Glas-gutes Trinkwasser für heute und morgen

Peak courses at Eawag Dübendorf

2008 年 10 月 7 日

Der Einsatz von umweltsychologischen Massnahmen für Verhaltensänderungen im Umweltbereich

2008 年 10 月 29/30 日

Wo ist Heizen und kühlen mit Abwasser möglich und sinnvoll?

2008 年 11 月 11/12 日

Ökotoxikologie-Kurs coetox Basis-Modul

2009 年 2 月 5/6 日

Evolutionsökologie im Gewässerschutz

详情:[www.eawag.ch/veranstaltungen](http://www.eawag.ch/veranstaltungen)