

rippy1 在斑马鱼早期胚胎背腹发育中的作用

孟亚平^{1,2}, 刘春业¹, 石德利^{1*}

(1. 山东大学生命科学学院, 济南 250100; 2. 清华大学生命科学学院, 北京 100084)

【摘要】 目的 探究 *rippy1* 基因在斑马鱼早期背腹轴发生过程中的作用。方法 利用斑马鱼整封原位杂交技术揭示 *rippy1* 基因在斑马鱼早期胚胎发育过程中的表达模式, 通过显微注射技术在胚胎 1 细胞期注射 *rippy1* 的 mRNA 来高表达 Ripply1 蛋白并在后期观察胚胎背腹标记基因的变化及胚胎形态变化。利用 Tol2 转基因技术构建 *rippy1* 启动子驱动 GFP 转基因鱼。结果 原位杂交结果显示 *rippy1* 基因在斑马鱼原肠早期胚盾期特异表达在胚盾处, 即预定的背部。高表达 *rippy1* 后, 在胚盾期背部标记基因表达范围扩大, 腹部标记基因表达减弱, 受精后 24 小时胚胎表现出严重的背部化表型: 头部增大, 腹部卵黄延伸减弱, 尾部躯干及尾部区域减少, 有的甚至形成了第二个体轴。得到的转基因鱼揭示 *rippy1* 母源表达, 并且转录起始位点上游 1200 个碱基驱动的 GFP 能模拟内源基因的表达图式。结论 *rippy1* 可能参与斑马鱼胚胎早期背腹轴的发生。

【关键词】 斑马鱼; *rippy1*; 早期胚胎发育; 背腹发生

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2015) 05-0446-07

Doi: 10.3969/j.issn.1005-4847.2015.05.002

The role of *rippy1* in zebrafish dorsal-ventral development

MENG Ya-ping^{1,2}, LIU Chun-ye¹, SHI De-li^{1*}

(1. School of Life Science, Shandong University, Jinan 250100, China

2. School of Life Science, Tsinghua University, Beijing 100084)

【Abstract】 **Objective** To explore the role of *rippy1* in zebrafish dorsal-ventral development. **Methods** Using zebrafish whole-mount in situ hybridization to examine the *rippy1* expression pattern in early embryo development. To analyse the expression pattern changes of dorsal-ventral marker genes at shield stage and the morphological changes at 24 hpf (hours post-fertilization) after overexpression of *rippy1* by injecting synthetic mRNA at 1-cell stage. Using Tol2 transposon technology to obtain a *rippy1* promoter driven GFP transgenic fish and to identify promoter region that recapitulates endogenous *rippy1* expression pattern. **Results** The in situ hybridization results revealed that *rippy1* specifically expresses in the future dorsal region at shield stage. Overexpression of *rippy1* caused an enhanced expression of dorsal marker genes and a reduction of ventral marker genes. Embryos overexpressing *rippy1* also showed severely dorsalized phenotype, with enlarged head, reduced ventral yolk extension, and shortened posterior trunk and tail regions, and the formation of a secondary trunk axis. Transgenic fish revealed the maternal expression of *rippy1* and suggested that a 1.2 kb promoter-driven GFP is able to recapitulate the endogenous gene expression pattern. **Conclusion** *rippy1* may participate in the early development of dorsal-ventral axis in zebrafish embryo.

【Key words】 Zebrafish; *rippy1*; Early embryo development; Dorsal-ventral axis

胚轴 (embryonic axes) 形成是多细胞生物躯体模式 (body plan) 建立的一个重要过程, 主要包括前-后轴 (anterior-posterior axis)、背-腹轴 (dorsal-

ventral axis) 和左-右轴 (left-right axis)。对两栖动物胚胎的研究发现背-腹轴早在受精后即可观察到, 如爪蛙胚胎皮层转动形成的灰色新月区在后期

[基金项目] 国家自然科学基金项目资助 (No: 31271556, 31471360, J1103515)。

[作者简介] 孟亚平, 女, 博士研究生, 研究方向: Wnt 信号通路, 胚胎诱导核体轴形成。

[通讯作者] 石德利, 男, 博士, 研究方向: Wnt 信号通路, 胚胎诱导核体轴形成。Email: dshi@sdu.edu.cn

发育成背部。德国发育生物学家 Hans Spemann 和他的学生 Hilde Mangold 将原肠早期蝾螈胚胎的背部组织移植到另一种蝾螈胚胎的腹部,得到了形成双体轴的胚胎,次级体轴的脊索来自于供体胚胎,而神经管和体节多数来自于受体,这说明该背部组织能诱导周围受体胚胎的细胞形成神经管,首次提出了胚胎诱导的概念并称该背部组织为组织者 (organizer)。

rippy 家族蛋白在 2005 年被发现并揭示了其部分功能^[1],研究发现 *rippy1* 和 *rippy2* 特异表达于体节,其中 *Ripply1* 蛋白与转录辅抑制因子 Groucho 结合,能够终止分节基因的表达,维持体节的前后极性。之后对 *rippy1* 的研究都集中在其在体节时期对体节发生的作用,而其在早期胚胎模式发生的作用却研究甚少。但最近在爪蛙中的研究发现 *rippy* 家族蛋白能通过其 WRPW 区域结合多梳蛋白 (Polycomb group proteins) 起转录去抑制的作用,并且在背-腹轴形成过程中起重要作用^[2]。然而,*rippy* 家族基因在胚胎发育早期的表达图式和调节方式还不清楚。并且,*rippy3* 是人的唐氏综合征关键区域基因 6 (Down syndrome critical region gene 6, *dscr6*) 的同源基因^[3]。因此,研究 *rippy* 家族基因的功能和作用机制能为人类遗传疾病的致病机理提供信息。我们通过原位杂交技术发现 *rippy1* 在斑马鱼早期胚胎中特异表达在背部,因此推测其可能参与背腹发生。故而通过过表达 *rippy1*,并调取 1.2 kb 的启动子片段,初步研究其在胚胎早期背腹发生的作用。

1 材料和方法

1.1 材料

AB 品系的斑马鱼养殖在 28.5℃ 的循环水系统中,如早期工作所描述^[4]。

1.2 方法

1.2.1 获取 *rippy1* cDNA

取斑马鱼胚盾 (shield) 时期的胚胎 50 枚,用 Trizol 方法提取胚胎总 RNA,使用 Transgene 公司 TransScript First-Strand cDNA Synthesis SuperMix 试剂盒反转录,详细步骤参见使用说明书。

1.2.2 斑马鱼 *rippy1* 整胚原位杂交

调取 *rippy1* 全长 cDNA,引物序列如下 *rippy1*-F: 5'-CAGCGCCAAACAAACG-3', *rippy1*-R: 5'-TCAAATTCGCACAGACGG-3',使用 Taq 酶扩增后将

其连入 pGEM-T 载体中。根据测序方向合成地高辛标记的反义 RNA 作为探针使用。其他探针如 *gooseoid* (*gsc*)、*chordin* (*chd*)、*floating head* (*flh*)、*even-skipped-like 1* (*eve1*)、*T-box6* (*tbx6*)、*wnt8a* 详见作者以前的工作^[5]。

合成的 *rippy1* 反义 RNA 用原位杂交液 hyb^+ (50% 甲酰胺, $5 \times SSC$, 0.1% Tween-20, 0.5 mg/mL 酵母 RNA, 0.05 mg/mL 肝素) 稀释至 1 ng/ μL 。收集不同时期的斑马鱼胚胎,固定于 4% 多聚甲醛中过夜。过渡到含 0.1% Tween-20 的 PBST 中,并在 PBST 中将胚胎膜剥去,用 PBST 洗过后在原位杂交液 hyb^- (50% 甲酰胺, $5 \times SSC$, 0.1% Tween-20) 中 65℃ 孵育 10 min,之后在 hyb^+ 中 65℃ 孵育 4 h。探针 60℃ 孵育过夜。第 2 天吸出探针以重复使用。胚胎用洗液 I (50% 甲酰胺, $2 \times SSC$, 0.1% Tween-20) 洗 30 min (60℃),重复 1 次;用洗液 II (5% 甲酰胺, $0.2 \times SSC$, 0.1% Tween-20) 洗 15 min (60℃),重复 1 次;用洗液 III (0.5% 甲酰胺, $0.02 \times SSC$, 0.1% Tween-20) 洗 30 min (60℃),重复 1 次。然后用 MABT 在室温下洗 3 次,用封闭液封闭 4 h。偶联碱性磷酸酶的地高辛抗体 1:2500 稀释于封闭液中,4℃ 孵育过夜。第 3 天吸出抗体以重复使用,用 MABT 在室温下洗 30 min,重复 1 次;用 PBST 在室温下洗 30 min,重复 1 次;在平衡缓冲液 (0.1 mol/L NaCl, 0.1 mol/L Tris-HCl pH 9.5, 0.05 mol/L MgCl₂, 0.1% Tween-20) 中平衡 10 min,加显色液 (5 mL 平衡缓冲液加 100 μL 60 mg/mL 左旋咪唑, 100 μL NBT/BCIP),室温避光,待信号足够强加多聚甲醛终止反应,在 70% 酒精中脱去浮色,拍照观察。

1.2.3 显微注射 *rippy1* mRNA

显微注射方法详见早期工作^[5]。*rippy1* mRNA 注射剂量为每个胚胎 200 pg。

1.2.4 *rippy1* 启动子序列及转基因鱼的获得

从基因组中调取 *rippy1* 基因组上游约 1.2 kb 的片段,引物如下: promoter-F: 5'-ATTCTCGAGG-GATCCAAAACAGCTTAT-3', promoter-R: 5'-ATTAGATCTGAATGAATGAAGGCGCGT-3'。并且在上下游引物中分别引入 *Xho* I 和 *Bgl* II 酶切位点,双酶后切连入 pT2A200R150G 载体。

单独注射该质粒观察胚胎是否有荧光。有荧光后将该质粒和转座酶 mRNA 共注射,剂量均为 50 pg,待该批注射的斑马鱼 F0 代性成熟后外交,筛选后代胚胎有特异荧光的 F1 代。

2 结果

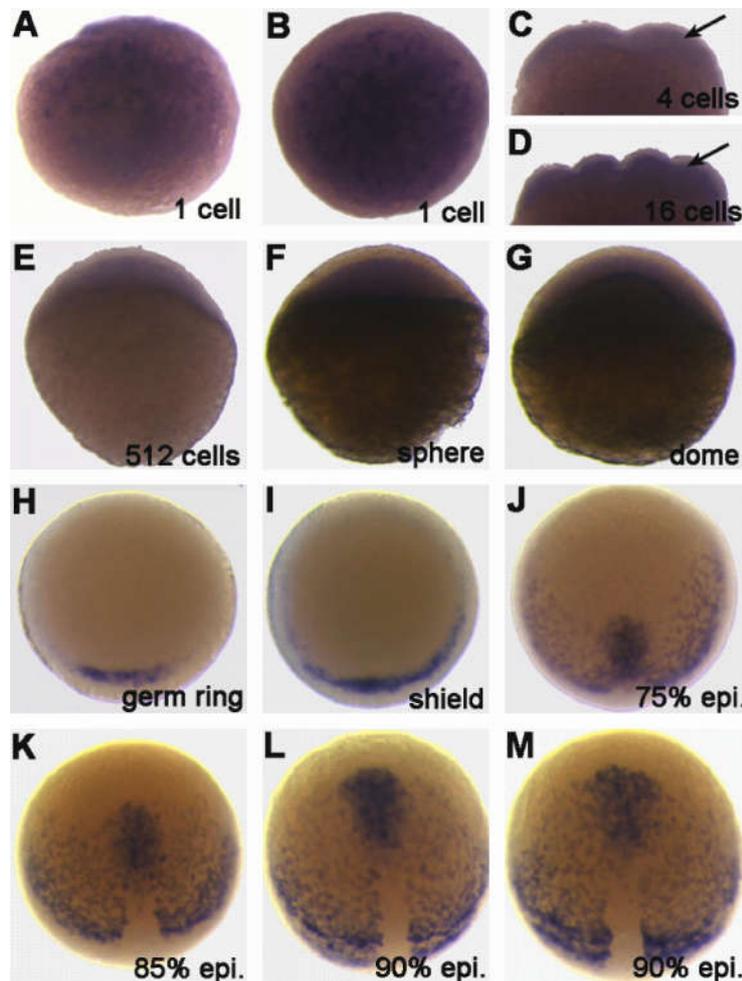
2.1 整胚原位杂交揭示 *rippy1* 在斑马鱼早期胚胎发育过程中的表达模式

为了明确 *rippy1* 是否参与早期背-腹轴的形成,我们首先利用整胚原位杂交检测该基因的时空表达图式。结果显示 *rippy1* 母源表达,但表达水平低。在原肠作用早期即胚环期表达增强且集中在预定背部的胚盾位置,在胚盾期 *rippy1* 在背部的表达继续增强,并且向侧部延伸。在原肠期,随着细胞运动的进行,*rippy1* 主要表达在前脊索板中胚层和后部将要形成的体节中,但在脊索中胚层中没有表达(图 1)。这个表达图式暗示 *rippy1* 基因可能在背

-腹轴和前-后轴形成过程中起调节作用。

2.2 高表达 *rippy1* 导致胚胎背部化

我们下一步对 *rippy1* 在背-腹轴形成中的作用进行了功能检测。在胚胎 1 细胞期通过注射 *rippy1* mRNA 进行高表达,收集胚盾时期的胚胎进行原位杂交。分别检测背部标记基因 *gsc*、*chd*、*flh* 和腹部标记基因 *eve1*、*tbx6*、*wnt8a* 的表达。我们发现几乎所有 *rippy1* 注射的胚胎背部标记基因 *gsc*、*chd*、*flh* 表达不但在背部增强并且明显向腹侧扩增。相反,腹部标记基因 *eve1*、*tbx6*、*wnt8a* 表达明显减弱(图 2)。这个结果说明高表达 *Ripply1* 改变了背腹细胞的命运,使背部区域扩大。显示 *rippy1* 能调节斑马鱼背部的发育。



注:(A-B)1 细胞期胚胎侧面观和动物极观,显示 *rippy1* 的母源表达。(C-G)分别为相应时期的侧面观。动物极向上。(H-J)分别为相应时期的动物极观,胚胎背部向下,(K-M)分别为相应时期的背部观,胚胎前部向上。

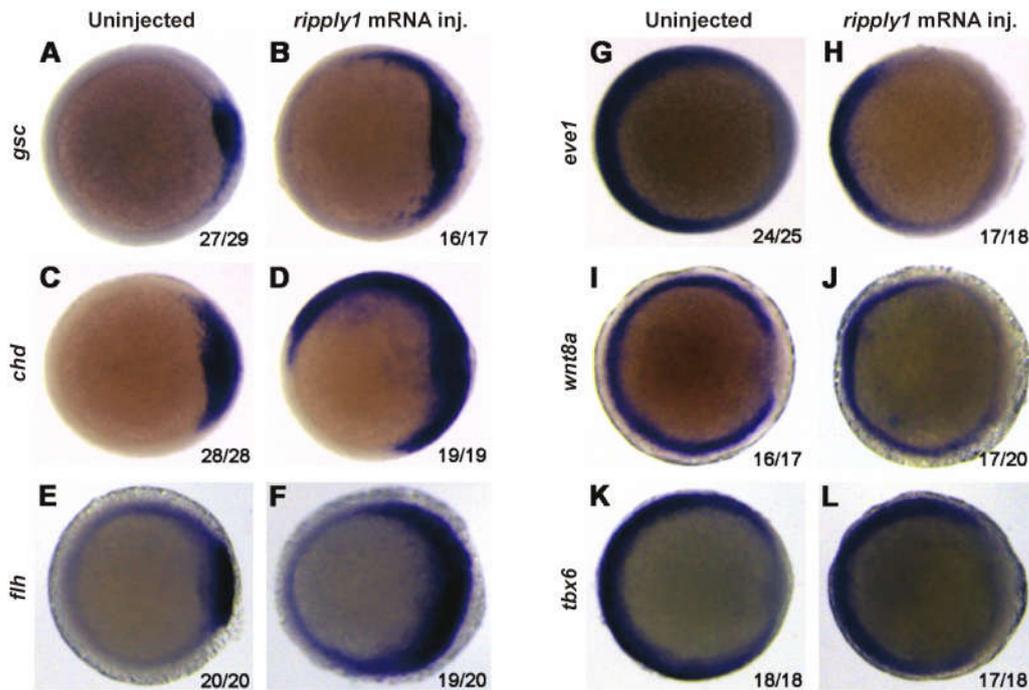
图 1 整胚原位杂交显示 *rippy1* 在斑马鱼早期胚胎发育过程中表达图式

Note. (A-B) 1-cell stage lateral view and animal pole view, showing *rippy1* maternal expression. (C-G) Lateral view of indicated stages with animal pole on the top. (H-J) Animal pole view of indicated stages with dorsal side on the bottom. (K-M) Dorsal view of indicated stages with anterior region on the top.

Fig. 1 *rippy1* maternal and zygotic expression patterns in early zebrafish developmental stages.

在 10 hpf(胚芽期)时观察胚胎的表型,发现原本呈球形的胚胎前后伸长,呈现明显的椭球形,这是典型的背部化表型(图 3A, B)。24 hpf 后观察胚胎,大多数胚胎(82/99)表现出背部化,其中 36 枚胚胎头部增大,尾部缺失(图 3C, D),而 46 枚胚胎

头部明显增大,体轴变短,尾部变短,无腹部尾鳍(图 3E),一小部分胚胎(6/99)甚至呈现双体轴(结果未显示)。这些表型进一步说明 *ripply1* 通过抑制胚胎后部发育来促进前部的发育。

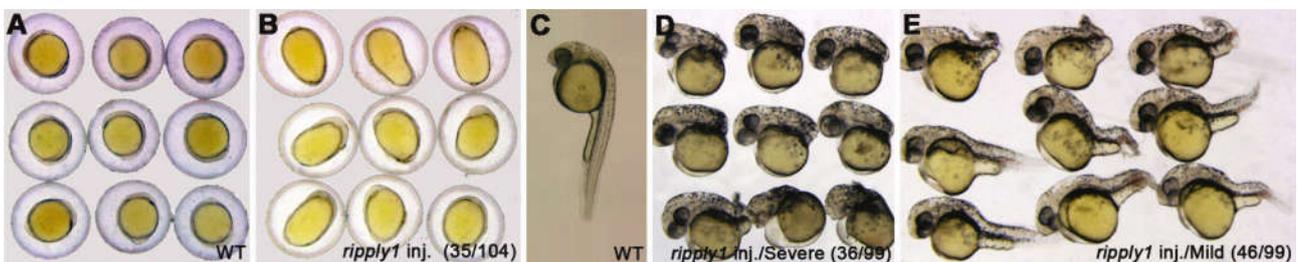


注:(A, C, E, G, I, K)未注射 *ripply1* mRNA 相应基因在胚盾期表达情况,动物极观,背部处在右边。(B, D, F, H, J, L)注射 *ripply1* mRNA 后相应基因在胚盾期表达情况,动物极观,背部处在右边。数据显示该结果所占的比例。

图 2 高表达 *ripply1* 后背腹标记基因在胚盾期的变化

Note. (A, C, E, G, I, K) The expression of indicated genes at shield stage in uninjected embryos. Animal pole view and dorsal is to the right. (B, D, F, H, J, L) The expression of indicated genes at shield stage in *ripply1* mRNA-injected embryos. Animal pole view and dorsal is to the right.

Fig. 2 *ripply1* overexpression causes the expression pattern changes of dorsal-ventral marker genes.



注:(A, C)胚芽期(10 hpf)和 24 hpf 野生型胚胎。(B)注射 *ripply1* mRNA 胚胎在尾芽期呈椭圆形。(D)严重表型。(E)较轻表型。

图 3 高表达 *ripply1* 后导致胚胎背部化和躯干及尾部缺失。

Note. (A, C) Bud stage (10 hpf) and 24 hpf wild-type (WT) embryo. (B) Oval shape of *ripply1* dorsalized embryo at bud stage. (D) Severe phenotype and (E) slightly mild phenotype.

Fig. 3 Dorsalized phenotype and trunk and posterior truncation of *ripply1* injected embryos.

2.3 *rippy1* 启动子及转基因斑马鱼

为了研究 *rippy1* 时空表达的调节机制,我们开展了对其启动子的研究。获得 *rippy1* 转录起始位点上游 1.2 kb 的片段后,将其后加 EGFP,然后克隆到 pT2A200R150G 转基因载体上(图 4A, B)。质粒注射后发现在胚盾期在胚盾处有特异的荧光表达(图 4C, D),体节期在体节处有特异的表达(结果未显示),说明该 1.2 kb 的片段能够调控 *rippy1* 在

斑马鱼胚胎中时空特异的表达。与转座酶共注获得转基因鱼 *rippy1:EGFP* 的 F0 代,发现其子代在 1 细胞期即有荧光,直到胚盾期仍是泛表达(图 5A-C'),可能是由于 EGFP 比较稳定,而母源的 *rippy1* 比较容易降解。在体节期该荧光则特异定位在躯干(图 5D, D')。在 24 hpf,EGFP 信号主要集中在体节中(图 5E),而在成鱼中,EGFP 信号主要集中在整个躯干部分(图 5F-G')。

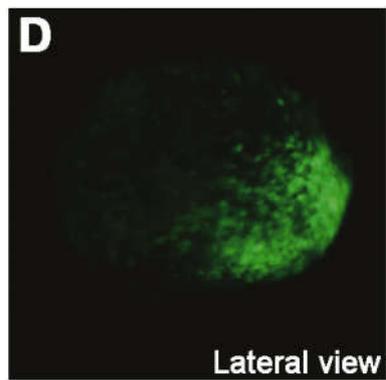
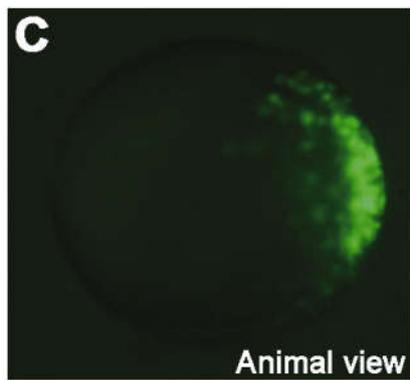
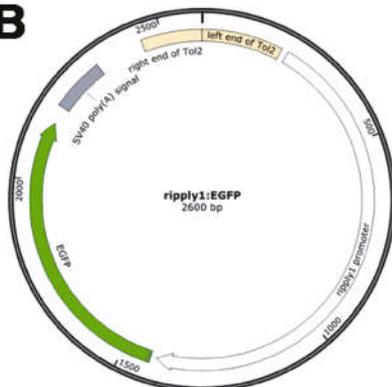
A

```

CATTAGGGATCCAAAACAGCTTATTAGTATAAAATAAAATAAATATTAATTGTGTTGGTATAGCAACATCATTTTTTTTAAATAGTA
GTTCTACATTTGATCATGCTCAAGTAAATAATTGCTTTGAATGACTTATTAATGCCAAAAGATTAGTTAATGCCAACATTTTTTACAAA
CCTTTATTTTTTGTGCAGTACAAAACTGCAGGCTTTTAGACTATTTAACTAGCATAATAAAACCAGTTCAGTGATCAGTGTGTATT
CACCTGATTGTGCACATTTTAGTCTAACAGCAAAGGCAGAACCTTATACACGTAGTAGTTGTACAATAAGTAAATATATATAAATAAT
AATCAATAAATAATTAGTCAAAGAATAACCATTAAGCCCTTGACACTATACATACAATTGTTAATGTAAAGAGGCTATAAAGCCATAT
CCTATGTAGCCTATAATAGTTTTAGTGACGTTAAGTCATATATTTTTTACTTTAAATTAGTTAAACTAATTAATGTTATGGTTTTTCAG
GTTACCTTTTTTCTGTGTATTGATACAAACCAATACTTTCTAAATATGCTAACCTGAATGATAATGTACACACTTTTTTATCTTTCC
CTTAAGGAAATTTACTAGTCTACAAAAACAACATGTTTACTTTATCTAGTTAATGTTAAATCATGGAAATTCACTTCGATTTTGGCTG
TTTTATGCTAACCATAGTATTTGTAAAACCTGTAAGATGTTAAATAGCCTACAAAAGGCAAAGAATGCGCCAAAAATTAGGCCTATTTCA
ACATTTCACTACATGAAAACAGGGATCATTGTCTGCTCTTAATTTAATGTAGACTCGAAACCTAATAACTAAGTAACTAGCTAACTACATTA
GTTATATATGGCTGCACCTCTGTGTCGCCCCCTGTCTGCTTTCTCGCAGATGGTGTGCAAGTTTGGCCCTCCGTGTTGTTCTAAAAA
CCTCAGGTACCAGTTTTCTCACCTCACGCTGGGGCGCACTGTTTACTCAACTGGAGAAGTCTTCGCACCAAAATGTCCATAGCACA
CTATATCCCATCGTTTGGCAAACAGCACCAACCCCTCTTAAAAACAACCTCGGGTCATTGGCATCGGCTGCACCGTCCAGCTCCG
CCCCCTGCAGCAGCTGCATAAAAACCCGAGAGCGACGCGCCTTCATTCATTcactgccccgtaaggacgacgactgaccgacc
    
```

↳ Transcription start

B

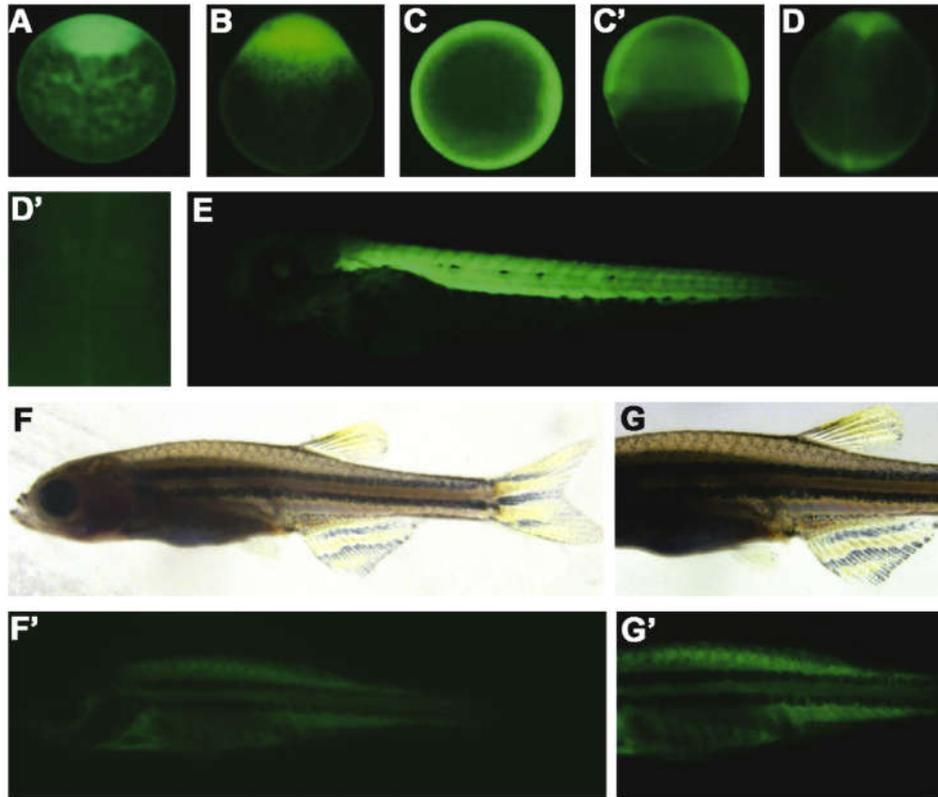


注:(A) *rippy1* 转录起始位点上游 1.2 kb 序列。(B) *rippy1:EGFP* 质粒图谱。(C, D) 注射 *rippy1:EGFP* 质粒后荧光信号位于胚盾期胚胎的背部。动物极观(C)和侧面观(D)。

图 4 注射 *rippy1:EGFP* 质粒后在胚盾期荧光表达情况

Note. (A) 1.2 kb *rippy1* promoter sequence upstream of the transcription start site. (B) *rippy1:EGFP* plasmid map. (C, D) Localization of fluorescence signal driven by the 1.2 kb *rippy1* promoter sequence on the dorsal side of the shield stage embryo. Animal pole view (C) and lateral view (D).

Fig. 4 Localization of fluorescence on the dorsal side at shield stage following injection of *rippy1:EGFP* plasmid



注:(A,B)受精后 10 min 和 1 细胞期胚胎荧光信号。侧面观。(C,C') 胚盾期荧光信号。动物极观和侧面观。(D,D') 体节期胚胎荧光信号。D' 是 D 的躯干部放大图。(E) 24 hpf 荧光信号。(F, G) 斑马鱼成鱼及躯干放大部分。(F', G') 成鱼及躯干放大部分的荧光信号

图 5 *rippy1* 启动子转基因 F1 代鱼的荧光表达图式

Note. (A, B) Fluorescence at 10 min after fertilization and 1 cell stage embryos. (C, C') A shield stage embryo, animal pole view and lateral view, respectively. (D, D') A somite stage embryo. D' is a higher magnification of the trunk region in D. (E) A 24 hpf embryo with fluorescence restricted in the somites. (F, G) An adult fish. G is a higher magnification of F at the trunk region. (F', G') Fluorescence pattern in F and G, respectively.

Fig. 5 Fluorescence signal in *rippy1* promoter-driven GFP F1 progeny transgenic fish

3 讨论

近年来许多研究关注 *rippy1* 在体节发生中的作用, *rippy* 家族基因包括 *rippy1*、*rippy2*、*rippy3*, 其与 T-box 蛋白存在相互作用, 三者均可通过结合 *tbx24* 抑制其转录激活^[6]。爪蟾中 Ledgerline 可明显抑制 *Tbx6* 的表达^[7], Bowline 同样能够抑制 *tbx6* 对下游基因的激活作用^[8]。对 *rippy* 基因家族的进化树分析表明 *rippy1* 基因只出现在后口动物中, 非洲爪蟾中无 *rippy1*, 存在两个 *rippy2* 同源基因 *Ledgerline/rippy2.1* 和 *Bowline/rippy2.2*, 可能会补偿 *rippy1* 的作用^[9]。另有爪蛙研究表明 XDSCR6/Ripply3 通过拮抗多梳家族蛋白 (polycomb group proteins) 参与胚胎背腹轴的形成^[2], 该研究为我们研究斑马鱼中 Ripply1 参与胚胎背腹轴形成提供了一种可能的机制。

原位杂交结果表明 *rippy1* 特异定位在胚盾期

的背部, 可能参与背腹发生, 高表达 *rippy1* 能增强背部基因的转录水平并抑制腹部基因的转录, 导致胚胎背部化表型, 因此, 我们的实验结果说明 *rippy1* 在胚胎背腹轴形成方面有重要作用。这些结论与在爪蛙中研究 XDSCR6/Ripply3 所得到的结果一致^[2]。

原位杂交揭示的是 mRNA 的表达模式, 而启动子的研究则可以在一定程度上揭示基因在蛋白水平的表达模式, 单独注射 *rippy1:EGFP* 质粒只能在胚盾期观察到特异荧光, 而转基因鱼结果则证明其母源表达, 说明卵母细胞中有蛋白可以调控 *rippy1* 的表达, 而受精之后合子基因的表达决定了 *rippy1* 在胚盾期的特异定位。

因此我们推测 *rippy1* 可能参与胚胎背腹轴, 并且是发生在合子基因开始表达之后, 但母源表达可能会对该作用有一定的影响。我们仍然需要 *rippy1* 敲除后的结果, 以证明其在背腹发生过程中是必要

的,而且 *rippy1* 以何种方式参与,是否涉及 Wnt、BMP 信号通路或者也是通过表观遗传水平调节背腹基因的表达仍待进一步的研究。启动子序列的获得有助于我们获得 *rippy1* 上游调控蛋白,从而绘制出完整的基因调控图谱。

参 考 文 献

- [1] Kawamura A, Koshida S, Hijikata H, et al. Groucho-associated transcriptional repressor *rippy1* is required for proper transition from the presomitic mesoderm to somites [J]. *Dev Cell*, 2005, 9(6): 735 - 744.
- [2] Li HY, Grifone R, Saquet A, et al. The *Xenopus* homologue of Down syndrome critical region protein 6 drives dorsoanterior gene expression and embryonic axis formation by antagonising polycomb proteins [J]. *Development*, 2013, 140(24): 4903 - 4913.
- [3] Shibuya K, Kudoh J, Minoshima S, et al. Isolation of two novel genes, *DSCR5* and *DSCR6*, from Down syndrome critical region on human chromosome 21q22.2 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 271(3): 693 - 698.
- [4] Cao JM, Li SQ, Shao M, et al. The PDZ-containing unconventional myosin XVIIIa regulates embryonic muscle integrity in zebrafish [J]. *J Genet Genomics*, 2014, 41(8): 417 - 428.
- [5] Cao JM, Li SQ, Zhang HW, et al. High mobility group B proteins regulate mesoderm formation and dorsoventral patterning during zebrafish and *Xenopus* early development [J]. *Mech Dev*, 2012, 129(9 - 12): 263 - 274.
- [6] Kawamura A, Koshida S, Takada S. Activator-to-repressor conversion of T-box transcription factors by the Ripply family of Groucho/TLE-associated mediators [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(10): 3236 - 3244.
- [7] Hitachi K, Danno H, Tazumi S, et al. The *Xenopus* Bowline/Ripply family proteins negatively regulate the transcriptional activity of T-box transcription factors [J]. *Int J Dev Biol*, 2009, 53: 631 - 639.
- [8] Kondow A, Hitachi K, Okabayashi K, et al. Bowline mediates association of the transcriptional corepressor XGrg-4 with Tbx6 during somitogenesis in *Xenopus* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 359(4): 959 - 964.
- [9] Janesick A, Shiotsugu J, Taketani M, et al. RIPPLY3 is a retinoic acid-inducible repressor required for setting the borders of the pre-placodal ectoderm [J]. *Development*, 2012, 139(6): 1213 - 1224.

[收稿日期] 2015-07-29

【编者按】 学术不端行为是指违反学术规范、学术道德的行为,国际上一般用来指捏造数据(fabrication)、篡改数据(falsification)和剽窃(plagiarism)三种行为。但是一稿多投、侵占学术成果、伪造学术履历等行为也可包括进去。学术不端行为在各国、各个历史时期都曾经发生过,但是像中国当前这样如此泛滥,严重到被称为学术腐败的地步,却是罕见的。这不仅表现在违反者众多、发生频繁,各个科研机构都时有发生,而且表现在涉及了从院士、教授、副教授、讲师到研究生、本科生的各个层面。由于目前中国缺乏学术规范、学术道德方面的教育,科技工作者在学习、研究过程中发生不端行为,经常是由于对学术规范、学术道德缺乏了解,认识不足造成的。因此,对科技工作者进行学术规范、学术道德教育,防患于未然,是遏制学术腐败、保证中国学术研究能够健康发展的一个重要措施。

早在 2007 年,中国科协就发布了科技工作者科学道德规范,本刊重温此规范,以期在我刊营造一种健康的学术研究氛围,由于版面限制,本刊陆续将规范全文刊出。

科技工作者科学道德规范(一)

第一章 总则

第一条 为弘扬科学精神,加强科学道德和学风建设,提高科技工作者创新能力,促进科学技术的繁荣发展,中国科学技术协会根据国家有关法律法规制定《科技工作者科学道德规范》。

第二条 本规范适用于中国科学技术协会所属全国学会、协会、研究会会员及其他科技工作者。

第三条 科技工作者应坚持科学真理、尊重科学规律、崇尚严谨求实的学风,勇于探索创新,恪守职业道德,维护科学诚信。

第四条 科技工作者应以发展科学技术事业,繁荣学术思想,推动经济社会进步,促进优秀科技人才成长,普及科学技术知识为使命。以国家富强,民族振兴,服务人民,构建和谐社会为己任。

(待续)