

## 基因工程根瘤菌表达融合蛋白 GST-HAL1 条件的优化及耐盐水平的提高

于志晶, 韦正乙, 邢少辰, 蔡勤安

(吉林省农业科学院生物技术研究中心, 长春 130124)

**摘要:** 利用原核表达载体 pGEX-4T-1 构建重组质粒载体 pGEX-HAL1, 三亲本杂交转化根瘤菌, 表达融合蛋白 GST-HAL1。结果表明, 与空白菌和未诱导工程根瘤菌相比, 诱导后工程根瘤菌的耐盐水平有明显提高。通过检测不同温度、不同诱导时间和不同 IPTG 诱导浓度条件下融合蛋白的表达量, 优化各个参数。在 28℃ 的温度条件下, 融合蛋白 GST-HAL1 表达量明显增加; 在 IPTG 浓度为  $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 诱导时间为 3 h 的条件下, 融合蛋白的表达量最高, 培养基产生的融合蛋白为  $3.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 占可溶性蛋白质的 39.34%。本研究对今后利用基因工程技术研制新型生物肥料做了有益的尝试。

**关键词:** HAL1 基因; 融合蛋白; 表达; 根瘤菌

中图分类号: Q789, Q81

文献标识码: A

文章编号: 1008-0864(2007)06-0064-07

## Optimization of Inducing Parameters to Express GST Fusion Protein in Engineered *Rhizobia* and the Enhancement of Salt Resistance

YU Zhi-jing, WEI Zheng-yi, XING Shao-chen, CAI Qin-an

(Biotechnology Research Center, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130124, China)

**Abstract:** Recombined plasmid pEGX-HAL1 was constructed using prokaryotic expression vector pGEX-4T-1, and transformed to *Rhizobia* by tri-parental mating to express fusion protein GST-HAL1. The results revealed that the salt resistance of engineered *Rhizobia* induced by IPTG was obviously improved, compared with blank and engineered *Rhizobia* without inducement. Under different temperatures, different inducing times and different IPTG inducement concentration, the expressing quantities of fusion protein were investigated to optimize the inducing parameters. The expressing quantities of fusion protein GST-HAL1 obviously increased under 28℃. Moreover, GST fusion protein can be induced effectively in engineered *Rhizobia*, and the product is up to  $3.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  liquid medium, which is 39.34% of total soluble protein, under the inducing conditions of 3 h and  $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  IPTG concentration. The study may contribute to bio-fertilizer production by utilizing gene engineering technology in the future.

**Key words:** HAL1 gene; fusion protein; expression; *Rhizobia*

根瘤菌是豆科植物中特有的固氮微生物, 作为生物肥料的重要部分, 菌肥在农业生产中发挥了重要的作用。自然界中的根瘤菌虽然有不少优良特性, 但也存在许多缺点。利用基因工程手段对根瘤菌的某些特性进行改造, 是一个行之有效的途径。

由于世界范围内的土壤盐碱化问题已经对农业生产和生态环境构成了很大威胁, 如何改良和

利用盐碱土壤, 进一步发展农业生产、改善生态环境成为一个重要任务。研究表明, 对盐胁迫最适应的基因型具有协调离子跨膜吸收与液泡分隔作用<sup>[1]</sup>, 因此, 研究与离子跨膜转运、离子分隔相关的关键基因及其产物的功能显得尤为重要。

HAL1 基因是酿酒酵母中重要的耐盐基因, 参与调节细胞内的离子浓度<sup>[2,3]</sup>, 该基因在盐胁迫下表达, 产物定位于细胞质, 蛋白质分子质量为

收稿日期: 2007-10-11; 修回日期: 2007-11-05

基金项目: 国家 863 计划项目(2003AA241151)资助。

作者简介: 于志晶, 硕士, 主要从事植物分子生物学工作。通讯作者: 邢少辰, 研究员, 博士, 主要从事植物逆境分子生物学和转基因研究工作。E-mail: xingsc64@yahoo.com.cn

32 kDa, 具有调节  $K^+/Na^+$  比的特性<sup>[4]</sup>。尽管 HAL1 本身不是转运蛋白,但在盐胁迫下能与 ENAI 基因产物协同作用促进  $Na^+$  的外排,与其他转运系统协同作用增加  $K^+$  的吸收,保持细胞内较低的  $Na^+/K^+$  比率,以减轻  $Na^+$  的毒害。

到目前为止,HAL1 基因已经被转化到百脉根、烟草、拟南芥、番茄、燕麦、水稻和西瓜等不同植物中<sup>[5-11]</sup>,转基因植株的耐盐水平都有不同程度的提高,这表明,HAL1 基因在调节  $Na^+/K^+$  比方面确实有一定的效果。Gervera 等将来源于酵母的 HAL2 基因首次转入木本植物柑桔中,分子检测表明,基因已经稳定整合并使柑桔表现出了较高的耐盐性<sup>[12,13]</sup>。

利用原核表达质粒载体 pGEX-4T-1,以 GST 融合蛋白形式在根瘤菌中诱导表达 HAL1 基因,证实了此基因可以提高根瘤菌的耐盐水平。同时,分别从温度、时间和诱导剂 IPTG 浓度三个方面进行了优化,以期找出 GST-HAL1 融合蛋白表达的最佳条件。希望通过在根瘤菌中表达耐盐基因 HAL1,为今后研制适合在盐碱土壤中利用的新型生物肥料提供技术基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株及质粒

根瘤菌菌株为吉林省农业科学院环境与资源中心惠赠,命名为吉 R18,在 pH 值 4~8 的范围内均可生长。原核表达载体 pGEX-4T-1 购自 Pharmacia 公司;pGEM-T Easy 克隆载体购自 Promega 公司;辅助质粒 pRK2013 为本实验室保存。

### 1.2 生化试剂

蛋白质相对分子质量标准购自 Gene 公司;丙烯酰胺、过硫酸胺等均购自 Sigma 公司;氨苄青霉素、IPTG 等试剂均购自鼎国生物技术服务公司。纯化用的 MagneGST<sup>TM</sup> protein purification system 试剂盒购自 Promega 公司。

### 1.3 培养基

LB 培养基(1L):胰蛋白胨 10g,酵母提取物 5g,NaCl 10g,pH 7.0。

YMA 培养基(1L):甘露醇 10g,  $K_2HPO_4$  0.5 g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.2 g,  $CaCl_2 \cdot 6H_2O$  0.1 g, NaCl 0.1 g,酵母粉 0.8 g,pH 6.8~7.0。

PBS 溶液(1L):NaCl 8 g,KCl 0.2 g,  $Na_2HPO_4$  1.44 g,  $KH_2PO_4$  0.24 g。

### 1.4 载体 pGEX-HAL1 的构建

根据已知的 HAL1 基因的序列设计引物(上游引物:5'-GCCAAGCTTCATTTCAAAGATTTAGGA-3';下游引物:5'-GCCTCTAGACTCAACTATTCTGTGTTGATTG-3'),以啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)基因组 DNA 为模板扩增出 900bp 左右片段。连接到 pGEM-T Easy 载体上,然后用 EcoRI 单酶切,切下 HAL1 基因,插入到表达载体 pGEX-4T-1 中,连接产物转化大肠杆菌感受态细胞 *E. coli* DH5 $\alpha$ ,挑取阳性菌落进行酶切鉴定,阳性者用于测序,测序确定连接方向正确后,即得到 pGEX-HAL1,如图 1 所示。DNA 序列分析由上海生工生物公司完成。

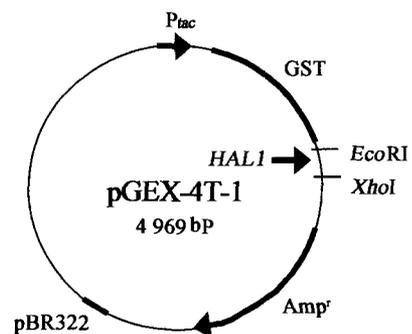


图 1 载体 pGEX-HAL1 示意图

Fig. 1 Construction of vector pGEX-HAL1.

注:箭头所指示为 HAL1 基因插入位点

Note: Arrow indicates the insert site of the HAL1 gene.

### 1.5 含有重组质粒的工程根瘤菌构建和耐盐水平的测定

以含有重组质粒 pGEX-HAL1 的 *E. coli* DH5 $\alpha$  为供体菌,与含有辅助质粒 pRK2013 的 *E. coli* 菌株和苜蓿根瘤菌共培养,通过三亲本杂交<sup>[13]</sup>,将重组质粒 pGEX-HAL1 转入到受体根瘤菌吉 R18 中,得到工程根瘤菌。工程根瘤菌经浓度为  $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 IPTG 诱导 3 h 后,接种到含有不同浓度 NaCl 的 YMA 培养基上,测定工程根瘤菌的耐盐水平。

### 1.6 不同诱导条件下 GST 融合蛋白的表达<sup>[14]</sup>

挑取工程根瘤菌的单个克隆,接种 10 mL 含有  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  氨苄青霉素的 YMA 培养中,28 $^{\circ}\text{C}$

振荡培养 24 h, 并以此作为种子液(以下种子液制备同此)。分别取 100  $\mu\text{L}$  种子液接种 10 mL YMA 培养基, 28 $^{\circ}\text{C}$  振荡培养 2 h, 然后在培养基中加入诱导剂 IPTG, 使其终浓度分别达到 0.4  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、0.6  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、0.8  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、1.0  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  和 1.2  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 分别放置在 26 $^{\circ}\text{C}$ 、28 $^{\circ}\text{C}$  和 30 $^{\circ}\text{C}$  的温度条件下, 缓慢振荡培养。当时间分别达到 2 h、3 h、4 h 和 5 h 后, 停止诱导, 5 000 rpm 离心 15 min, 去除上清后, 将细菌沉淀悬浮于 1.0 mL 的 1 $\times$  PBS 中, 用于融合蛋白提取。

### 1.7 融合蛋白的提取、纯化和 SDS-PAGE 凝胶分析

用反复冻融法提取工程根瘤菌悬浮物的总蛋白, 用试剂盒分离纯化 GST-HAL1 融合蛋白, 操作步骤按说明书方法进行。SDS-PAGE 凝胶电泳分析蛋白质表达情况, 制备 12% 分离胶、5% 浓缩胶, 分别取 20  $\mu\text{L}$  纯化前的总蛋白和纯化后的融合蛋白产物加入 2 $\times$  SDS 上样缓冲液 5  $\mu\text{L}$ , 点样。样品在浓缩胶中时用 50 V 电压, 当样品进入分离胶后电压调为 100 V。电泳完毕后, 凝胶用考马斯亮蓝染色。

### 1.8 融合蛋白产量的测定

以牛血清蛋白质组分 VII 标准溶液为参照, 制作标准曲线。利用紫外吸收法在 280 nm 处测定光吸收值, 以确定纯化后的蛋白质表达量。测定 3 个重复, 取平均值从标准曲线上查出待测蛋白质的浓度, 计算表达量。

## 2 结果

### 2.1 工程根瘤菌中重组质粒的鉴定

对用三亲杂交方法转入到根瘤菌中的 *HAL1* 基因进行分子鉴定。菌落 PCR 和 *EcoRI/XhoI* 双酶切鉴定, 都得到了略小于 900bp 的目标片段, 证明重组质粒 pGEX-HAL1 已成功的转入根瘤菌中(见图 2)。

### 2.2 工程根瘤菌耐盐水平的变化

重组质粒经过三亲杂交后导入根瘤菌中, 得到表达融合蛋白的工程根瘤菌。将未经诱导和经 1.0  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 IPTG 诱导的工程根瘤菌分别接

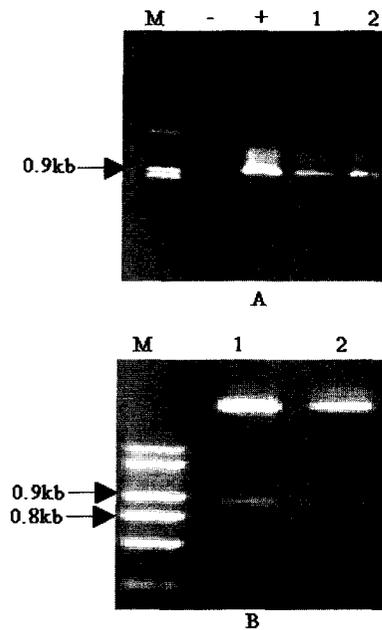


图 2 根瘤菌中重组质粒 pGEX-HAL1 的分子鉴定

Fig. 2 Identification of the recombinant plasmid pGEX-HAL1 in engineered *Rhizobia*.

A: 菌落 PCR 鉴定结果。M: DNA 分子质量标准; -: 水, 阴性对照; +: 质粒阳性对照; 1, 2: 不同菌落;  
B: *EcoRI/XhoI* 酶切鉴定结果。M: DNA 分子质量标准; 1, 2: 不同菌落。

A: Colony PCR result. M: Marker; -: Water (negative control); +: Plasmid (positive control); 1, 2: Different clones of *Rhizobia* strain.

B: Identification by *EcoRI/XhoI* enzyme digestion. M: Marker; 1, 2: Different clones of *Rhizobia* strain.

种到不同盐浓度的 YMA 培养基上, 同时用空白根瘤菌做为对照, 检测工程根瘤菌耐盐水平的变化, 结果见图 3。

图 3-A 显示, 在 3% 盐浓度下, 三个处理都能生长, 但诱导后的工程菌生长状态明显好于未诱导工程菌和对照空白菌。图 3-B 显示, 在 5% 盐浓度下, 空白菌受到抑制不能生长, 未诱导的工程菌可以生长, 但生长状况明显不如诱导后的根瘤菌; 图 3-C 中, 在 7% 盐浓度下, 只有诱导的根瘤菌可以生长; 图 3-D 中, 所有处理在 9% 盐浓度下均不能生长。以上结果说明诱导后的工程根瘤菌可以耐受 7% 左右的盐浓度, 通过诱导表达 *HAL1* 基因可以提高根瘤菌的耐盐水平。另外, 通过比较空白菌和未诱导工程菌之间的耐盐水平, 可以看出,



图3 不同处理根瘤菌耐盐水平的比较

Fig. 3 Comparison of salt resistance among three different treatments of *Rhizobia*.

注:各平板上部为诱导的工程根瘤菌,左边为未诱导的工程根瘤菌,右边为空白根瘤菌。

A:含3% NaCl的培养基;B:含5% NaCl的培养基;C:含7% NaCl的培养基;D:含9% NaCl的培养基。

Note: Uper part of the plate exhibited the growing codition of engineered *Rhizobia* induced by IPTG, left side showed that of engineered *Rhizobia* without inducement, and right side showed that of wild *Rhizobia*.

A: YMA medium supplemented with 3% NaCl; B: YMA medium supplemented with 5% NaCl; C: YMA medium supplemented with 7% NaCl; D: YMA medium supplemented with 9% NaCl.

即使没有 IPTG 的诱导,外源基因 *HAL1* 也可能存在少量的背景表达,使未诱导工程菌比空白菌的耐盐水平稍有提高。

### 2.3 不同诱导条件下融合蛋白的表达量

不同诱导条件下,融合蛋白的表达情况见图4。在26℃条件下(图4-A),当诱导时间为1 h、2 h的时候,产量都比较低,当诱导时间为3 h,IPTG浓度为 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{h}^{-1}$ ,产量达到最高值 $2.82 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;同样,诱导温度为28℃时(图4-B),IPTG浓度为 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,诱导时间为3 h,产量可达到 $3.02 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。诱导温度为30℃时(图4-C),IPTG浓度为 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,诱导时间3 h的情况下,产量最高,为 $2.87 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。综合上述不同组合的结果,融合蛋白诱导表达的最佳条件可确定为:诱导温度28℃,IPTG浓度 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,诱导时间3 h。

融合蛋白纯化前后进行的 SDS-PAGE 凝胶电泳结果表明,纯化之后 GST 融合蛋白的纯度大幅度提高,结果见图5。图5中箭头指示的清晰条带即为预期的59 kDa的 GST-HAL1 融合蛋白。

### 2.4 工程根瘤菌中融合蛋白产量的测定

根据牛血清白蛋白组分 VII 标准溶液制作的标准曲线,纯化的融合蛋白稀释4倍后,经测定平均光吸收值是0.345,计算得到融合蛋白的浓度 $3.02 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,表明1 mL培养基中可产生融合蛋白3.02 mg。经测定,可溶总蛋白的光吸收值是0.872,由此可以计算出,纯化后 GST 融合蛋白占可溶总蛋白的39.34%。

## 3 讨论

根瘤菌的固氮作用对植物的生长具有重要作用。盐分胁迫可以降低根瘤的增殖和生长,同时,影响根瘤中豆血红蛋白色素的形成,最终导致根瘤的固氮效应下降<sup>[15]</sup>。本研究利用工程携带有 *HAL1* 耐盐基因的原核表达载体转化苜蓿的根瘤菌,通过诱导证明了外源基因的表达提高了宿主菌的耐盐水平,同时优化了融合蛋白表达的条件,为后续工作奠定了基础。

到目前为止,*HAL1* 基因已经被转化到多种植物中,除了能提高转基因植物的耐盐性之外,还可以提高钾的含量。例如烟草转化 *HAL1* 后,经 PCR 证实 *HAL1* 基因已整合入烟草基因组中,荧光定量 PCR 分析结果表明,*HAL1* 基因已在烟苗根系中表达,烟叶中含钾量提高了30%<sup>[16]</sup>。本研究构建的工程菌接种紫花苜蓿后,也提高了苜蓿本身的抗盐水平(资料未发表),说明工程根瘤菌的耐盐性有了提高。

GST 融合表达系统具有表达效率高、操作简便等特点,同时,该系统还具有将 GST 头部切除的剪切功能,可以得到单一的目的蛋白质,进行蛋白质相关功能的研究,因而,广泛用于各种融合蛋白的表达<sup>[17]</sup>。一般的研究多是利用这个系统在大肠杆菌中表达,还没有在根瘤菌中表达 GST 融合蛋白的报道。本实验室成功地利用原核表达

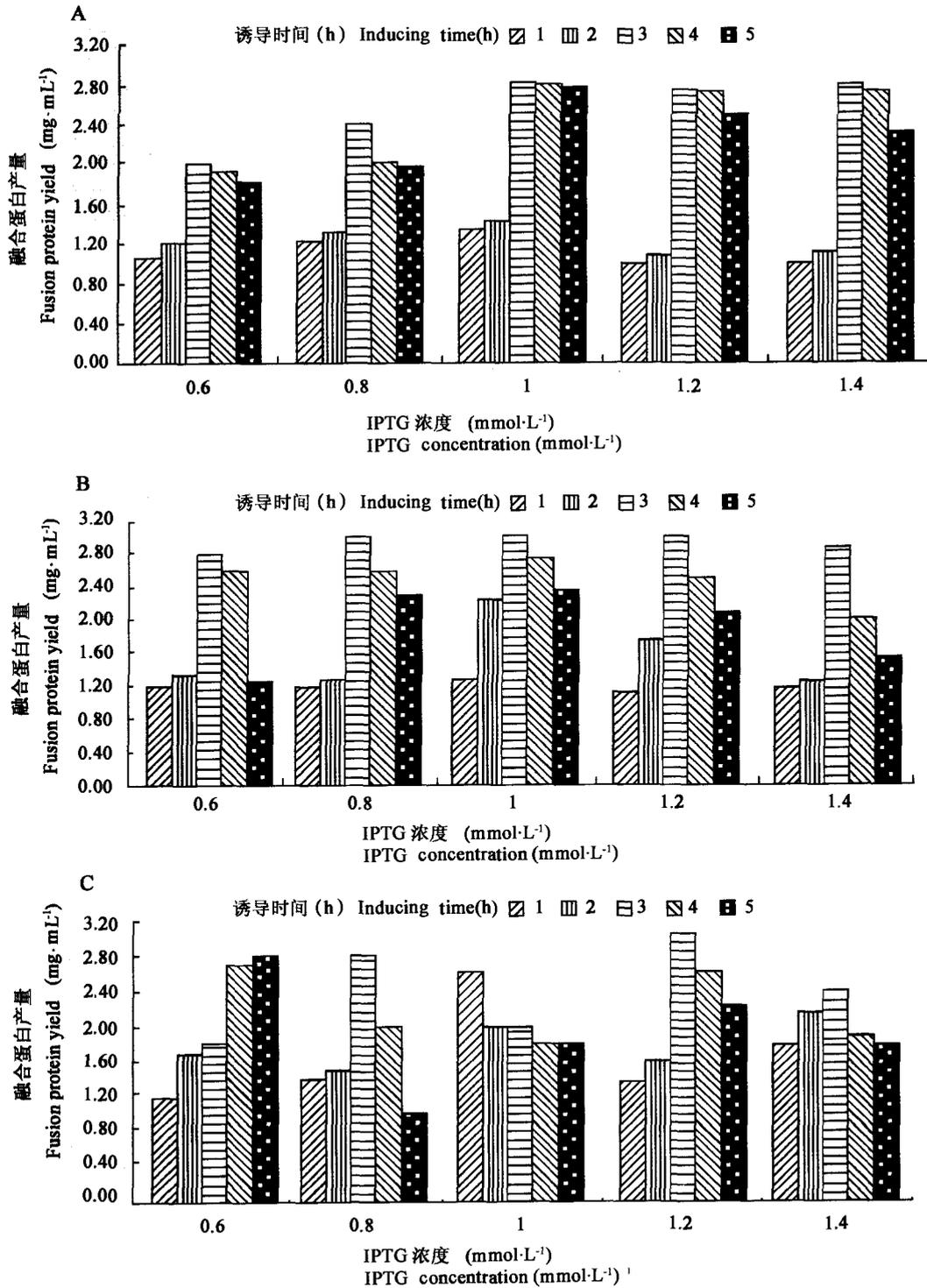


图4 不同诱导条件下融合蛋白的表达量

Fig.4 The expression of GST-fusion protein under different inducing conditions.

A: 26°C条件下诱导时间、诱导强度与融合蛋白产量之间的关系; B: 28°C条件下诱导时间、诱导强度与融合蛋白产量之间的关系; C: 30°C条件下诱导时间、诱导强度与融合蛋白产量之间的关系。

A: Relations between yield of fusion protein and inducing time or IPTG concentration at 26°C; B: Relations between yield of fusion protein and inducing time or IPTG concentration at 28°C; C: Relations between yield of fusion protein and inducing time or IPTG concentration at 30°C.

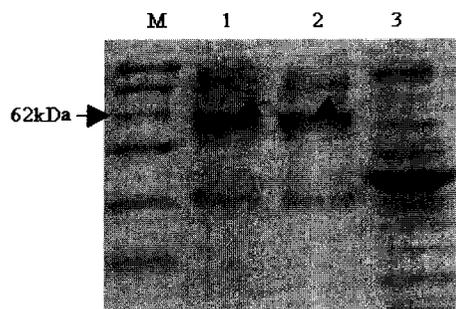


图5 SDS-PAGE 凝胶电泳分析融合蛋白的表达

**Fig. 5** SDS-PAGE electrophoresis of GST fusion protein. M: 蛋白质分子质量标准; 1, 2: 纯化后的融合蛋白; 3: 纯化前的融合蛋白。箭头所示为目标蛋白 GST-HAL1  
M: Protein molecular marker; 1, 2: Purified protein; 3: Unpurified protein. Arrows indicate the bands of GST-HAL1 fusion protein.

载体 pGEX-4T-1 构建重组质粒, 转化根瘤菌后诱导耐盐基因 *HAL1* 的表达, 高效生产 GST-HAL1 融合蛋白。

一般情况下, 诱导温度能影响目的蛋白质的表达形式, 因此, 可以通过调节温度使目的蛋白质以可溶形式或包涵体形式大量表达。本研究的旨在提高目的融合蛋白在根瘤菌中的表达量, 所以, 在试验中选取有高表达量的 28℃ 为最佳诱导温度。

氨苄青霉素作为一种选择性抗生素, 因为载体中  $\beta$  内酰胺酶基因的表达产物会破坏氨苄, 不含转化质粒的阴性细菌将被杀死。黄意巍等<sup>[18]</sup> 研究发现, 培养基中氨苄的含量对表达有影响, 以  $180 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的浓度为佳。对于 pGEX 载体的一系列衍生载体, 一般采用  $50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的氨苄浓度。

IPTG 作为一种常用的诱导剂, 其优点是容易被降解和代谢, 诱导效果持久, 诱导条件简单等。但 IPTG 有潜在的毒性, 并且价格昂贵, 各国药典均不提倡使用。乳糖具有无毒、价廉等优点, 有望成为 IPTG 的替代物。然而, 乳糖本身也会引起细胞在转运及生理代谢等方面一系列的复杂变化。因此, 需要对菌体生长及诱导条件进行更加精细的研究和优化<sup>[19, 20]</sup>。

影响外源基因在根瘤菌中表达的因素有很多, 但能用于大量纯化的载体-宿主菌-培养条件的最佳组合往往是惟一的。本研究优化了诱导

温度、时间及 IPTG 浓度, 确定了大量表达的适宜条件, 与此同时, *HAL1* 基因的表达也提高了工程根瘤菌的耐盐水平, 因此, 可以初步确定根瘤菌的耐盐水平和 GST-HAL1 融合蛋白表达之间的存在关联, 至于工程根瘤菌耐盐水平的变化和融合蛋白表达量之间的关系及功能机制, 有待进一步的研究。

### 参 考 文 献

- [1] 于海武, 李莹. 植物耐盐性研究进展[J]. 北华大学学报, 2004, 5(3): 257-263.
- [2] Gaxiola R, de Larrinoa I F, Villalba J M, et al. A novel and conserved salt-induced protein is an important determinant of salt tolerance in yeast[J]. EMBO, 1992, 11, 3157-3164.
- [3] Osbert C, Rus A M, Bolstin C, et al. The yeast *HAL1* gene improves salt tolerance of transgenic tomato[J]. Plant physiol., 2000, 123(5): 393-402.
- [4] Rios G, Ferrando A, Serrano R, et al. Mechanism of salt tolerance conferred by overexpression of the *HAL1* gene in *saccharomyces cerevisiae*[J]. Yeast, 1997, 13(2): 515-528.
- [5] 韦正乙, 刘艳芝, 王兴智, 等. *HAL1* 基因转化百脉根(*Lotus cirniculatus*) 的初步研究[J]. 吉林农业科学, 2007, 32(1): 14-16.
- [6] 李淑娟, 杨传平, 刘桂丰, 等. *HAL1* 基因转化烟草及其耐盐性[J]. 东北林业大学学报, 2004, 32(4): 47-49.
- [7] Yang S X, Zhao X Y, Zhang Q, et al. *HAL1* mediates salt adaptation in *Arabidopsis thaliana*[J]. Cell Res., 2001, 11(2): 142-148.
- [8] Gisbert C, Rus A M, Bolarin M C, et al. The yeast *HAL1* gene improves salt tolerance of transgenic tomato[J]. Plant Physiol., 2000, 123: 393-402.
- [9] 田吉林, 杨玉爱, 何玉科. 转 *HAL1* 基因番茄的耐盐性[J]. 植物生理与分子生物学报, 2003, 29(5): 409-414.
- [10] Rohila J S, Jain G K, Wu R. Genetic improvement of *Basmati* rice for salt and drought tolerance by regulated expression of a barley *HAL1* cDNA[J]. Plant Sci., 2002, 163(3): 525-532.
- [11] Ellul P, Rios G, Atares A, et al. The expression of the *Saccharomyces cerevisiae HAL1* gene increases salt tolerance in transgenic watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb) Matsun. & Nakai][J]. Theor. Appl. Genet., 2003, 107: 462-469.
- [12] Gervera M, Ortega C, Navarro A, et al. Generation of transgenic citrus plants with the tolerance to salinity gene *HAL2* from yeast[J]. Journal of Horticulture Science & Biotechnology, 2000, 75(1): 26-30.
- [13] 赵斌, 何绍江. 微生物学实验[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [14] 奥斯伯 F, 布伦特 R, 金斯顿 R E, 等著, 颜子颖, 王海林译. 精编分子生物学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [15] 赵可夫, 范海. 盐生植物及其对盐渍生境的适应生理[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- [16] 郭兆奎, 杨谦, 姚泉洪, 等. *HAL1* 基因转化烟草提高烟叶

- 含钾量研究[J]. 中国烟草学报, 2006, 12(5):46-51.
- [17] Wu X, Oppermann U. High-level expression and rapid purification of rare-codon genes from hyperthermophilic archaea by the *GST* gene fusion system[J]. *J. Chromatography (B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences)*. 2003, 786(1):177-185.
- [18] 黄意巍, 王恩多, 王应睐. 大肠杆菌精氨酸-tRNA 合成酶高表达的优化及酶的纯化[J]. 生物化学与生物物理学报, 1995, 27(3):255.
- [19] Lin L L, Hsu W H. Lactose-induced expression of *Bacillus* sp., *TS-23* amylase gene in *Escherichia coli* regulated by a T7 promoter[J]. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1997, 24(5):365-368.
- [20] Gombert A K, Kilikian B V. Recombinant gene expression in *Escherichia coli* cultivation using lactose as inducer[J]. *Biotechnol.*, 1998, 60(1-2):47-54.

## 2008 年国际植物诱发突变学术研讨会通知

适逢突变技术应用于植物遗传改良 80 周年之际, 国际粮农组织和国际原子能机构 (FAO/IAEA) 联合署将在奥地利首都维也纳国际原子能机构总部主办“2008 年国际植物诱发突变学术研讨会”。为了促进更多的中国科学家积极参与国际植物诱发突变学术活动, 了解国际植物诱发突变技术的发展动态, 加强与 FAO/IAEA 联合署的联系, 中国农业生物技术学会作物生物技术分会将协办此次大会, 并积极组织国内科学家参加。现将有关事宜通知如下:

### 1 关于 2008 年国际植物诱发突变学术研讨会

时 间: 2008 年 8 月 12 ~ 15 日

地 点: 维也纳国际原子能机构总部

大会议题: 自然突变、理化诱变及插入突变的分子遗传学与生物学; 高通量突变筛选技术 (TILLING 及其它反向遗传学策略); 诱发突变新技术 (离子注入、航天诱变等); 植物突变种质资源的收集、保存、鉴定与利用; 植物突变新种质的创制与新品种培育; 农作物抗病、抗逆、品质及营养性状的突变分析与相关基因发掘; 重大突变品种的社会经济效益分析等。

会议免收注册费。会议工作语言为英语。

### 2 中国农业生物技术学会作物生物技术分会组织参会的有关事宜

中国农业生物技术学会作物生物技术分会是本届会议的协办单位, 经研究决定组团出席 2008 年国际植物诱发突变学术研讨会。具体要求如下:

(1) 在 IAEA 网上注册和提交论文摘要: 进入 <http://www-pub.iaea.org/MTCD/Meetings/Announcements.asp?ConfID=167> 网页, 在 2007 年 12 月 14 日前, 按照会议统一要求的文稿模板

(Word2000 版本, 可下载), 将参会的论文摘要提供给 2008 年国际植物诱发突变学术研讨会筹备处。

(2) 通过 CAEA 网上提交参会申请表: 进入国家原子能机构网上办公系统 <http://www.caea-com.net.cn/index.asp>, 进行网上注册后, 下载单位推荐信模版及参会申请表 *cn167\_FormA* 和论文登记表 *cn167\_FormB* (不提交论文者无需填写此表), 完整填写后网上提交。特别提醒参会申请表 (*cn167\_FormA*) 中“designating government or organization”一栏, 请统一填写为“China Atomic Energy Authority (CAEA)”。

(3) 与中国农业生物技术学会作物生物技术分会联系: 将填写完整的论文登记表 (*cn167\_FormB*)、参会申请表 (*cn167\_FormA*)、单位正式推荐信 (盖章扫描) 以及论文摘要, 通过 E-mail 邮件寄回作物生物技术分会秘书处。我学会将通过国家原子能机构统一办理参会相关手续。从事植物突变及相关领域研究者与决策者均可通过我学会组团参加 2008 年国际植物诱发突变学术研讨会。优先安排向会议投送论文摘要的作者组团参会。

(论文摘要格式、论文登记表 (*cn167\_FormB*)、参会申请表 (*cn167\_FormA*) 和单位推荐信模版等也可通过 E-mail 向学会秘书处索取样本)

联系方式: 北京海淀区中关村南大街 12 号  
中国农业科学院作物科学研究所  
中国农业生物技术学会作物生物技术分会 (100081)

联系人: 刘录祥

电 话: 010-62122719

E-mail: luxiang@263.net.cn