

大肠杆菌D-木糖异构酶基因的序列分析*

侯永敏² 张其玖¹ 王书锦²

(中国科学院生物物理研究所, 北京)¹

(中国科学院应用生态研究所, 沈阳)²

大肠杆菌D-木糖异构酶基因由含D-木糖操纵子的质粒pXO100被克隆到pWR13质粒上。以Bal31核酸酶逐步缩短DNA片段的方法, 获得了若干个含有不同大小DNA片段的亚克隆, 并在质粒上直接测定序列, 从中获得了1.6kb DNA片段的核苷酸全序列。其中包括长度为1320bp编码440个氨基酸的蛋白质。此外, 在其5'端尚有209个核苷酸和3'端82个核苷酸, 它们分别含有核糖体结合位点SD序列和D-木糖异构酶基因转录终止区。

关键词 D-木糖异构酶基因; Bal31核酸酶; 亚克隆; 核苷酸全序列

D-木糖异构酶 (D-木酮糖异构酶, EC5.3.1.5), 也称作葡萄糖异构酶, 它既能催化葡萄糖转化为果糖, 又能使木糖异构化为木酮糖。酶的这些作用在生产上均具有重要的经济意义^[1]。

存在于自然界中的大量半纤维素经弱酸处理即可水解成D-木糖, 通常可作为微生物的碳源。然而, 常用的酒精酵母只能利用D-木酮糖, 所以, 只有将D-木糖异构酶基因转到酵母细胞中, D-木糖才能被发酵产生酒精。因此, D-木糖异构酶基因工程的研究是有意义的^[2-7]。为了实现D-木糖异构酶基因在酵母中的表达, 我们在原有的工作基础上^[8], 对该酶的结构基因和邻近序列作了分析测定。

材料与 方法

(一) 菌种和质粒

大肠杆菌 JM83、JM101、HB101和 MC1061等菌株由本组保藏。

质粒pXO103^[8]: 在pBR322质粒上插入了含大肠杆菌D-木糖操纵子13.2kb

Hind III DNA片段。pWR13: 带氨苄青霉素抗性的高拷贝质粒, 由中国科学院上海细胞所郭礼和同志提供。

(二) 培养基和抗生素

常用的培养基有LB、M₉CA等, 其成分和配制方法参考文献[9]。抗生素: 氨苄青霉素系国产, 工作浓度为50—100μg/ml。

(三) 酶、试剂和缓冲液

限制酶、T4DNA连接酶、Bal31核酸酶, DNA聚合酶大片段等均系美国Biolabs公司产品。dNTP、ddNTP系Boehringer公司产品; 低熔点胶为Sigma公司产品; [α-³²P]-dATP为Amersham或NEN公司产品; M13引物系上海复旦大学王启松同志惠赠。其他试剂均为国产分析纯。所用缓冲液参考文献[9, 10]。

(四) DNA操作

质粒的制备。DNA的酶切和连接及转

本文于1989年7月25日收到。

* 本项工作得到中国自然科学基金会资助。

上海复旦大学遗传所王启松和我所朱榴琴等老师给予指导; 彭天剑、杨卫民、高必峰等同志给予帮助在此一并致谢。

化等参考文献〔9〕。DNA片段回收,常用的方法有低熔点胶或透析膜方法。透析膜方法由中国科学院动物所杨卫民同志提供。具体操作: DNA样品电泳后,在长波长紫外灯下,切下所需DNA片段胶块,放置在布有簸箕形透析膜电泳槽中,加入刚刚浸没胶块的电泳缓冲液,通电,在长波长紫外灯下观察,看到带有EB的DNA样品全部移到透析膜直角处,停止电泳,调换插头,再反向电泳3—5秒,即可取出样品,以饱和正丁醇去除EB,以乙醇沉淀,获得DNA样品,该方法的优点是操作简便,样品收率高。

(五)克隆和亚克隆的筛选——Xgal试纸法

常规方法是将Xgal直接加入欲测的平皿培养基中,消耗大量的Xgal。为了节省这种昂贵的试剂,改为Xgal试纸方法。

Xgal试纸的制作:将一定量的Xgal置于无菌平皿中,以少量的二甲基甲酰胺溶解,加入无菌水,终浓度为0.5mg/ml,将无菌滤纸放入此液中浸透后,取出,在超净工作台中晾干,备用。筛选: M_9 CA平皿中转化菌落长成后,根据菌落多少,可将Xgal试纸剪成相应大小,贴在菌落上,湿透后,菌落转到纸片上,取出试纸,放入另一平皿中,37℃保温30min观察结果。挑出保持菌落本色的克隆,直接从纸片上挑出在 M_9 CA培养基划线培养,提取质粒作进一步鉴定。

(六)Bal₃₁核酸酶缩短测序方法

1. 具体操作方法参考文献〔1,10〕。在300 μ l RE缓冲液中加入40 μ g pXI203 DNA和200单位EcoRI,37℃反应2h,经电泳检查酶切完全后,加5 \times Bal31核酸酶缓冲液100 μ l,水92 μ l和8单位Bal31核酸酶(8 μ l),混匀,37℃保温,每隔4min

分别取样30、50、80、140和200 μ l,加入1/20体积0.5mol/L EDTA停止反应。每管加TE缓冲液至200 μ l以等体积苯酚和氯仿-苯酚各抽提一次,以乙醇沉淀,真空干燥。

2. 在DNA样品管中,加入RE缓冲液18 μ l和Hind III 2 μ l,37℃反应2h,在1%低熔点胶上电泳,切出所需DNA片段胶块。

3. 在另一管中加入约3 μ g pWR13、3 μ l10 \times RE、24 μ l水和1.5 μ l Sma I (15单位),37℃反应4h,酶切完全后,70℃加热10min,使Sma I失活。然后加入4.5 μ l 10 \times RE,20单位Hind III和适量水,总体积为60 μ l,37℃反应2h,经低熔点胶分离。

4. 将经Sma I和Hind III处理的pWR13与上述缩短了DNA片段连接,转化JM83大肠杆菌,以Xgal试纸筛选出亚克隆。

5. 将克隆DNA经酶切电泳鉴定,确定被缩短了DNA片段大小,挑出彼此相差约200bp的DNA。

6. 以M13引物在质粒上直接测定序列。

结果与讨论

(一)D-木糖异构酶基因的亚克隆

以Bgl II酶切pXO103得到了1.6kb DNA片段,并将其克隆到质粒pWR13上,得到了pXI203重组质粒。结果见图版I-A。

将已经得到的pXI203DNA,经Bal31核酸酶逐步缩短的方法,经克隆、转化、筛选和DNA酶切鉴定,获得了大小不同的一系列的亚克隆,如图版I-B、C所示。选择其中彼此相差200bp左右的亚克隆,

-209	GTACTTTT	GTTGCCCAAT	TGTACTTATT	GCATTTTCT	OTTOGAGGAA	TTACCCAGTT	
-150	TCATCATTCC	ATTTTATTTT	GCCAGCGGACC	GCACACTTGT	GAATTATCTC	AATACCAGTG	
-90	TGAAATAACA	TAATTGAGCA	ACTGAAVAGGG -10	AGTGCCCAAT	ATTACGACAT	CATCCATCAC	
-30	CCCGGGCATT	ACDTGATTAT	GGAGTTCAAT -10 +1 SD	ATG CAA GCC	TAT TTT GAC	CAG CTC GAT	27 Gln Leu Asp (9)
	CGC GTT CGT TAT GAA GGC TCA AAA TCC TCA AAC CCG TTA GCA TTC CGT CAC TAC						81
	Arg Val Arg Tyr Glu Gly Ser Lys Ser Ser Asn Pro Leu Ala Phe Arg Phe Ala						(27)
	AAT CCG GAC GAA CTG GTG TTG GGT AAG CGT ATG GAA GAG CAC TTG CGT TTT GCC						135
	Asn Pro Asp Asp Glu Leu Val Leu Glu Lys Arg Met Glu Glu His Leu Arg Phe Ala						(45)
	GSC TGC TAC TGG CAC ACC TTC TGC TGG AAC GGG CCG GAT ATG TTT CGT GTG GGG						189
	Ala Cys Tyr Trp His Thr Phe Cys Trp Asn Gly Ala Asp Met Phe Gly Val Gly						(63)
	GCG TTT AAT CGT CCG TGG CAG CAG COT GGT GAG GCA CTG GCG TTG GCG AAG CGT						243
	Ala Phe Asn Arg Pro Trp Gln Gln Pro Gly Glu Ala Leu Ala Leu Ala Lys Arg						(81)
	AAA GCA AAT GTC GCA TTT GAG TTT TTC CAC AAG TTA CAT GTG CCA TTT TAT TGC						297
	Lys Ala Asp Val Ala Phe Glu Phe Phe His Lys Leu His Val Pro Phe Tyr Cys						(99)
	TTC CAC GAT GTG GAT GTT TCC CGT GAG CGC CCG TCG TTA AAA CAG TAC ATC AAT						351
	Phe His Asp Val Asp Val Ser Pro Glu Gly Ala Ser Leu Lys Glu Tyr Ile Asn						(117)
	AAT TTT CCG CAA ATG GTT GAT GTC CTG GCA GCG AAG CAG GAA CAG AGC GCG GTG						405
	Asn Phe Ala Gln Met Val Asp Val Leu Ala Gly Lys Gln Glu Glu Ser Gly Val						(135)
	AAG CTG CTG TGG GGA ACG GCG AAC TGC TTT ACA AAG COT CCG TAC GCG GCG GGT						459
	Lys Leu Leu Trp Gly Thr Ala Asn Cys Phe Thr Asn Pro Arg Tyr Gly Ala Gly						(153)
	GCG GCG ACG AAC GCA GAT COT GAA GTC TTC ACC TGG CCG GCA ACC GAA GTT GTT						513
	Ala Ala Thr Asn Pro Asp Pro Glu Val Phe Ser Trp Ala Ala Thr Glu Val Val						(171)
	ACA GCG ATG GAA GCA ACC CAT AAA TTG GCG GGT GAA AAC TAT GTC CTG TCG GCG						567
	Thr Ala Met Glu Ala Thr His Lys Leu Gly Gly Glu Asn Tyr Val Leu Trp Gly						(189)
	GGT CGT GAA GGT TAC GAA ACG CTG TTA AAT ACC GAG TTG COT CAG GAG CGT GAA						621
	Gly Arg Glu Gly Tyr Glu Thr Leu Leu Asn Thr Asp Leu Arg Gln Glu Arg Glu						(207)
	CAA CTG GCG CGC TTT ATG CAG ATG GTG GAT GAG CAT AAA CAT AAA ATC GGT TTC						675
	Gln Leu Gly Arg Phe Met Gln Met Val Val Glu His Lys Ile Gly Phe						(225)
	CAG GGC ACG TTG CTT ATC GAA CCG AAA CCG CAA GAA CCG ACC AAA CAT CAA TAT						729
	Gln Gly Thr Leu Leu Ile Glu Pro Lys Pro Cln Glu Pro Thr Lys His Cln Tyr						(243)
	GAT TAC GAT GCC GCG ACG GTC TAT GCG TTC CTG AAA CAG TTT GGT CTG GAA AAA						783
	Asp Tyr Asp Ala Ala Thr Val Tyr Gly Phe Leu Lys Gln Phe Cys Leu Glu Lys						(261)
	GAG ATT AAA CTG AAC ATT GAA GCT AAC CAC GCG ACG CTG GCA GGT CAC TCT TTC						837
	Glu Ile Lys Leu Asn Ile Glu Ala Asn His Ala Thr Leu Ala Cys His Ser Phe						(279)
	CAT CAT GAA ATA GCC ACC GGC ATT CCG CTT GCG CTG TTC GGT TCT GTC GAC GCG						891
	His His Glu Ile Ala Thr Ala Ile Ala Leu Gly Leu Phe Gly Ser Val Asp Ala						(297)
	AAC CTG GGC GAT GCG CAA CTG GCG TGG GAC ACC GAG CAG TTC CCG AAC ACT GTG						945
	Asn Arg Gly Asp Ala Cln Leu Gly Trp Asp Thr Asp Gln Phe Pro Asn Ser Val						(315)
	GAA CAG AAT GCG CTG GTG ATG TAT GAA ATT CTG AAA GCA GCG CGT TTC ACC ACC						999
	Glu Glu Asn Ala Leu Val Met Tyr Glu Ile Leu Lys Ala Gly Gly Phe Thr Thr						(333)
	GGT GGT CTG AAC TTC GAT GCC AAA GAT CGT CGT CAA AGT ACT GAT AAA TAT GAT						1053
	Gly Gly Leu Asn Phe Asp Ala Lys Val Arg Arg Cln Ser Thr Asp Lys Tyr Asp						(351)
	CTG TTT TAC GGT CAT ATC GGC GCG ATG GAT ACG ATG CCA CTG GCG CTG AAA ATT						1107
	Leu Phe Tyr Gly His Ile Gly Ala Met Asp Thr Met Ala Leu Ala Leu Lys Ile						(369)
	GCA GCG CCG ATG ATT GAA GAT GGC GAT CTG GAT AAA CCG ATC GCG CAG CGT TAT						1161
	Ala Ala Arg Met Ile Glu Asp Gly Leu Asp Lys Arg Ile Ala Gln Arg Tyr						(387)
	TCC GCG TGG AAT AGC GAA TTG GCG CAG CAA ATC CTG AAA GCG CAA ATG TCA CTG						1215
	Ser Gly Trp Asn Ser Glu Leu Gly Gln Gln Ile Leu Lys Gly Cln Met Ser Leu						(405)
	GCA GAT TTA GCC AAA TAT GGT CAG GAA CAT CAT TTG TCT CCG GTG CAT CAG AGT						1269
	Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ala Gln Glu His His Leu Ser Pro Val His Gln Ser						(423)
	GGT CCG CAG GAA CAA CTG GAA AAT CTG GTA AAC CAT TAT CTG TTC GAC AAA TAA						1323
	Gly Arg Gln Glu Gln Leu Glu Asn Leu Val Asn His Tyr Leu Phe Asp Lys						(441)
	CGGGTAA CTGTCCAGTC CATTGCCCCA GTATCCCTA GCGATACCGG GCAATTTTIT						1379
	AAGGAACGAT CCATATGTAT AT						1432

图 1 含D-木糖异构酶基因的1.6kb DNA片段核苷酸序列

Fig. 1 The nucleotide sequence of 1.6 kb DNA fragment containing the D-xylose isomerase gene

供作序列分析用。

(二) D-木糖异构酶结构基因的分析

选用了7个亚克隆DNA, 经NaOH变性后, 加入M13引物, 37℃退火, 加入双脱氧反应混合物、(α - 32 P)-dATP和DNA聚合酶大片段, 进行链终止反应, 在50cm长胶上电泳, 上样两次, 可读出250—300个核苷酸, 由于相邻DNA片段相差约200个核苷酸, 重叠序列较易找到, 如图1所示, 读出了1611核苷酸序列。在1.6kb DNA的序列中, 发现了D-木糖异构酶的结构基因序列, 其长度为1320bp, 编码一个由440个氨基酸组成的蛋白质。根据测到的序列, 绘制了1.6kb DNA片段的物理图谱, 如图2所示。

1. 转译起始: 由图1可以看出, 在-12位和+1位各有一个ATG。+1位ATG上游端有富含AT的6个核苷酸(-1—-6), 相邻的是一个核糖体结合位点, 即SD序列GGAG(-7—-10), 而-12位ATG上端没有这些序列。所以, 转译的起始密码子是+1位的ATG。此外, Schellenberg^[7]曾分析了D-木糖异构酶N端氨基酸序列, 发现头几个氨基酸是Met-Gln-Ala-Tyr, 而不是Met-Glu-Phe-Asn。这正说明转译起始密码子是+1位ATG而不是-12位ATG, 与我们的结果相一致。

2. 转录终止: 如图1、3所示, 第1321位有一个终止密码子TAA, 其后, 相隔70个核苷酸处为D-木酮糖激酶起始密码子ATG, 在这两个基因之间出现一个富含GC双螺旋发夹形结构(第1346和1372位之间)。紧接在TAA终止子之后是一个寡聚T, 表明该基因的转录是不依赖于 ρ 因子。这个结果与国外已有的报道^[6,7]是一致的。

3. 密码的使用: 如表1所示, 大肠

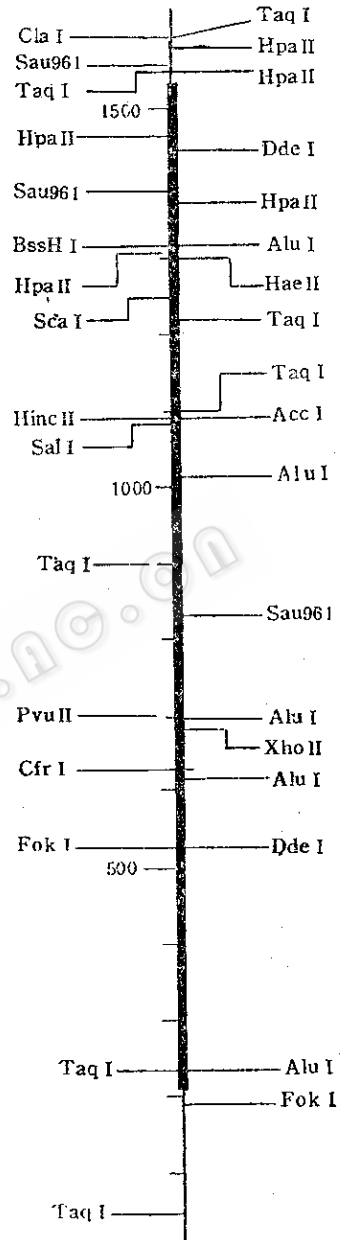


图2 含大肠杆菌D-木糖异构酶基因1.6kb DNA片段的物理图

Fig. 2 Physical map of 1.6kb DNA fragment containing *E. coli* D-xylose isomerase gene. The D-xylose isomerase gene is designated by black bar.

杆菌D-木糖异构酶基因所使用的密码子是大肠杆菌偏爱的被大量tRNA所识别的密码子。在该酶基因序列中Glu, Arg,

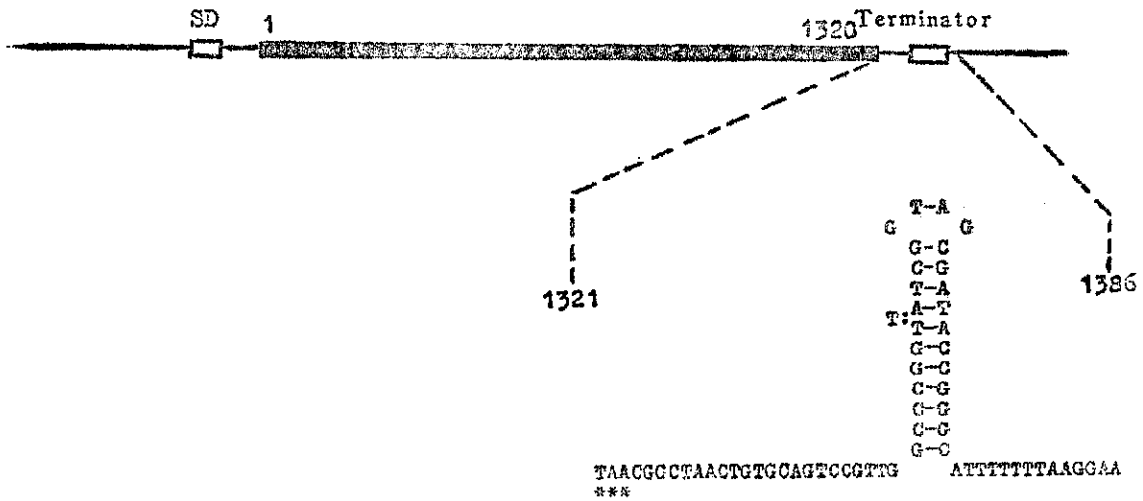


图 3 D-木糖异构酶基因的结构和调控序列

Fig. 3 Structural and regulatory sequences of the D-xylose isomerase gene

表 1 大肠杆菌D-木糖异构酶基因的密码使用

Table 1 Codon usage in the *E. coli* D-xylose isomerase gene

Codon- amino acid	n	Codon- amino acid	n	Codon- amino acid	n	Codon- amino acid	n
UUU-Phe	12	UCU-Ser	3	UAU-Tyr	11	UGU-Cys	0
UUC-Phe	13	UCC-Ser	3	UAC-Tyr	7	UGC-Cys	4
UUA-Leu	5	UCA-Ser	3			UGG-Trp	8
UUG-Leu	8	UCG-Ser	1	CAU-His	12	CGU-Arg	13
CUU-Leu	2	CUU-Pro	4	CAC-His	7	CGC-Arg	6
CUC-Leu	2	CCC-Pro	1	CAA-Gln	11	CGA-Arg	0
CUA-Leu	0	CCA-Pro	2	CAG-Gln	13	CGG-Arg	0
CUG-Leu	25	CCG-Pro	7	AUU-Asn	8	AGU-Ser	3
AUU-Ile	6	ACU-Thr	1	AAC-Asn	12	AGC-Ser	3
AUC-Ile	6	ACC-Thr	9	AAA-Lys	19	AGA-Arg	0
AUA-Ile	1	ACA-Thr	2	AAG-Lys	5	AGG-Arg	0
AUG-Met	12	ACG-Thr	7	GAU-Asp	17	GGU-Gly	16
GUU-Val	6	GCU-Ala	2	GAC-Asp	7	GGC-Gly	19
GUC-Val	6	GCC-Ala	10	GAA-Glu	23	GGA-Gly	1
GUA-Val	2	GCA-Ala	12	GAG-Glu	11	GGG-Gly	2
GUG-Val	9	GCG-Ala	20				

Lys、Leu、Gly和 Asn 的密码子均与大肠杆菌大量的tRNA 的反密码子相匹配。有意思的是，在19个Arg 密码子中，极端地偏爱CGU和CGC，而没有使用 CGA和CGG。然而，Saari等^[11]报道的 Ampullariella SP D-木糖异构酶基因中，21个 Arg 密码子，除3个 CGU 和11个CGC外，尚有7个CGG。不仅如此，密

码子中第三位核苷酸为 G 或 C 者竟高达97%，而大肠杆菌仅占55%。尽管二者同属原核生物，在密码的使用上存在着明显的差异。这也许与其基因结构中的 GC 含量有关，前者 GC 含量高达73%，后者为51%。

(三)与已发表的 D-木糖异构酶 结构基因序列的比较

国外已有三家实验室对大肠杆菌 D-木糖异构酶基因的序列进行了测定。其中 Schellenberg^[7] 和 Lawlis^[6] 的结果基本一致, 然而需要指出的是 Lawlis 把翻译起始密码定在 -12 位 ATG 可能有问题, 正如上述论证过的理由那样, 正确的起始密码应该是 +1ATG。这样修正后, 结构基因的长度均为 1320bp。但是, Briggs^[6] 等人的结果与众不同, 木糖异构酶结构基因长度为 1002bp, 比起我们和其它两个实验室的结果短 318bp。Briggs 测得的结构基因的 5' 端核苷酸序列与其他实验室的结果基本一致。然而, 其基因中段与后段核苷酸序列差别较大, 由于一个核苷酸的增减或更换就可能致整个氨基酸密码的变更, 以致终止密码子的位置提前出现。所以 Briggs 等人的结果也许由于部分核苷酸序列的差错而造成。

表 2 结果表明, 我们与 Lawlis^[6] 和 Schellenberg^[7] 结构基因长度均为 1320bp。然而, 在 504、505 和 508 位上三

个核苷酸是不同的, 其中 505 位核苷酸的不同造成一个氨基酸的差别。我们的结果与 Briggs 的结果差别要大得多。

表 2 本文与其他文献报道的 D-木糖异构酶基因核苷酸序列和氨基酸的差异

Table 2 Difference between the present work and other published works in the nucleotide sequence of the *E. coli* D-xylose isomerase gene and amino acid

Position of codon and amino acid	502	505	508	511
Present work	ACC Thr	GAA Glu	GTT Val	GTT val
Lawlis ^[6]	ACG Thr	CAA Gln	GTT Val	GTT Val
Schellenberg ^[7]	ACG Thr	CAA Gln	GTT Val	GTT Val
Briggs ^[6]	ACC Thr	AGT Ser	TTT Phe	***

“.” and “—” indicate different nucleotides and amino acids between the present work and other published data, respectively

*** symbolizes the lack of the codon corresponding to the position

参 考 文 献

- [1] Chen, W.P.: *Process Biochem.*, 15: 30—35, 1980.
- [2] Maleszka, R. et al.: *Can. J. Biochem.*, 60: 144—151, 1982.
- [3] Ho, N.W.Y. et al.: *Enzyme Microb. Technol.*, 5: 417—420, 1983.
- [4] Rosenfeld, S.A. et al.: *Mol. Gen. Genet.*, 194: 410—415, 1984.
- [5] Lewis, V.B. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 47: 15—21, 1984.
- [6] Briggs, K.A. et al.: *The EMBO J.*, 3: 611—616, 1984.
- [7] Schellenberg, G.D. et al.: *J. Biol. Chem.*, 259: 6826—6832, 1984.
- [8] 张其玖等: *生物工程学报*, 4: 44—47, 1988.
- [9] Maniatis, T. et al.: *Molecular Cloning*, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y., 1982.
- [10] Gou, L.H. et al.: *Nucl. Acids Res.*, 11: 5521—5539, 1983.
- [11] Sarri, G.C. et al.: *J. Bacteriol.*, 169: 612—618, 1987.

SEQUENCE OF THE D-XYLOSE ISOMERASE GENE FROM *ESCHERICHIA COLI*

Hou Youmin² Zhang Qijiu¹ Wang Shujin²

(*Institute of Biophysics, Academia Sinica, Beijing*)¹

(*Institute of Applied Ecology, Academia Sinica, Shenyang*)²

The gene encoding for the D-xylose isomerase in *Escherichia coli* was cloned into plasmid pWR13 from plasmid pXO100 containing the D-xylose operon DNA fragment. Several subclones having a series of the DNA fragments were obtained by virtue of shortening progressively with Bal 31 nuclease and directly sequenced on the plasmids. The complete nucleotide sequence of 1.6 kb DNA fragment was obtained. It includes the structural gene of 1320 bp in the length, which encodes for the protein of 440 amino acids, and an additional 209 nucleotides at 5' terminus and 82 nucleotides at 3' terminus to the structural gene. A SD sequence for the ribosome binding site is followed by the putative ATG initiator codon with 6 nucleotides in between. A palindromic sequence suggesting the terminator is preceded by the structural gene.

Key words

D-xylose isomerase gene; Bal31 nuclease; subcloning; complete nucleotide sequence

图 版 说 明

Explanation of plate I

A. 含有D-木糖异构酶基因pXI203质粒的鉴定

Characterization of plasmid pXI203 containing the D-xylose isomerase gene.

1. sPP I DNA digested with EcoR I; 2. pXO 103 digested with bgl I; 3. pXI 203 digested with EcoR I and Hind III; 4. pWR13 digested with Hind III; 5. pXI 203 digested with Hind III; 6. pXO 105 digested with Hind III

B. 亚克隆质粒DNA Hind III的酶切电泳图

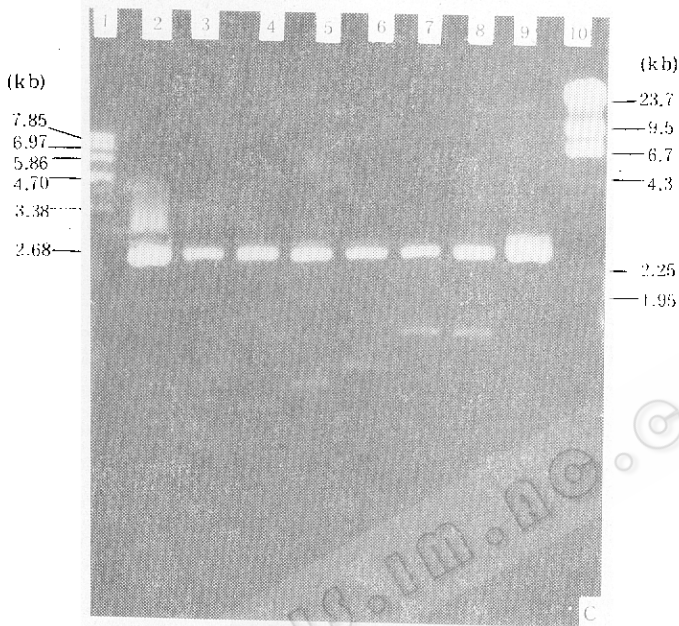
Electrophoresis pattern of digestion of the subclone plasmid DNA with Hind III. 1 and 10. DNA digested with Hind III, 2—9. subclone plasmid DNA digested with Hind III

C. 亚克隆质粒DNA Hind III和EcoR I的酶切电泳图

Electrophoresis pattern of digestion of the subclone plasmid DNA with Hind III and EcoR I.

7. sPP I digested with EcoR I; 10. DNA digested with Hind III; 2—9. the plasmid DNA digested with Hind III and EcoR I

Wu Aizhen et al.: Hybrid recombination of AcNPV transfer vector with *Bombyx mori* NPV and expression in silkworm larvae and pupae and the stability of expression product



SDS-PAGE 电泳图

SDS-PAGE electrophorogram of polyhedrin and β -galactosidase expressed in the BmN cell

A. Infected with recombinant NPV B. Infected with NPV

颜望明: 启动子探测质粒 pSDSI 的构建

Yan Wangming: Construction of promoter-probe plasmid pSDSI Plate I

