

研究简报

菠菜甜菜碱醛脱氢酶基因在棉花中的过量表达和抗冻耐逆性分析

罗晓丽¹, 肖娟丽¹, 王志安¹, 张安红¹, 田颖川², 吴家和^{1,2}

1 山西省农业科学院棉花研究所, 运城 044000

2 中国科学院微生物研究所植物基因组国家重点实验室, 北京 100101

摘 要: 分离出菠菜甜菜碱醛脱氢酶基因(*SoBADH*)构建成由 CaMV35S 驱动的双元植物表达载体 pBSB, 农杆菌菌株 LBA4404 携带该载体转化棉花, 获得转基因棉花植株。65 株转基因植株经过 PCR 筛选、Southern blotting 分析证明有 45 株为成功的转化株, 外源基因已经被整合到棉花的染色体组中, 并以单拷贝插入居多。对部分株系的 *SoBADH* 基因的表达进行分析表明均有较高的 mRNA 和蛋白的表达。经测定这些株系中的甜菜碱醛脱氢酶活性显著提高, 达到 0.66~1.70 nmol/min/mg 水平。同时这些转基因株系在盐胁迫下比对照长势强, 株高和地上部分的鲜重显著高于非转基因对照; 在低温胁迫下, 这些转基因株系表现出显著的抗冻性能。结果表明菠菜甜菜碱醛脱氢酶能够在异源植物棉花中过量表达, 并具有较高的酶活性, 转基因棉花可作为抗逆育种的种质材料。

关键词: 棉花, 菠菜甜菜碱醛脱氢酶, 耐盐性, 转基因

Overexpression of *Spinacia oleracea* Betaine Aldehyde Dehydrogenase (*SoBADH*) Gene Confers the Salt and Cold Tolerant in *Gossypium hirsutum* L.

Xiaoli Luo¹, Juanli Xiao¹, Zhian Wang¹, Anhong Zhang¹, Yingchuan Tian², and Jiahe Wu^{1,2}

1 Institute of Cotton Research, Shanxi Academy of Agricultural Science, Yuncheng 044000, China

2 State Key Laboratory of Plant Genomics, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract: The open reading frame of *Spinacia oleracea* Betaine Aldehyde Dehydrogenase (*SoBADH*) was retrieved from *Spinacia oleracea* and inserted into the *Agrobacterium tumefaciens* binary vector pBin438, which was driven by CaMV35S promoter, and produced the new binary vector pBSB. *A. tumefaciens* LBA4404 carrying this plasmid was used in genetic transformation of plants. Forty-five primary transgenic plants were detected by PCR and verified by the Southern blotting from 65 regenerated plants, of which 27 transgenic plants had only one copy of T-DNA. The Northern blotting and Western blotting analysis indicated that the *SoBADH* gene had been transcribed mRNA and expression protein in the transgenic cotton lines. The testing of *SoBADH* activity of transgenic plant leaves showed that the enzyme activity was much higher than that of the non-transgenic cotton. The growth of transgenic plants was well under the salinity and freezing stress, whereas the non-transgenic plant grew poorly and even died. Challenging with salinity, the height and fresh weight of transgenic plants was higher compared with those of non-transgenic plants.

Received: December 6, 2007; **Accepted:** March 13, 2008

Supported by: the National Ministry of Science and Technology (No. 2005BA530C) and Shanxi Science and Technology Department (No. 041001-1).

Corresponding author: Jiahe Wu. Tel: +86-359-2126317; E-mail: wujiahe@126.com

国家科技部攻关引导项目(No. 2005BA530C)和山西省科技攻关项目(No. 041001-1)资助。

Under the freezing stress, the relative conductivity of leaf electrolyte leakage of the transgenic cotton lines was lower than that of non-transgenic plants. These results demonstrated that the *SoBADH* gene could over express in the exogenous plants, and could be used in genetic engineering for cotton stress resistance.

Keywords: *Gossypium hirsutum* L., *Spinacia oleracea* betaine aldehyde dehydrogenase (*SoBADH*), salt tolerance, transgenic

我国耕地中, 干旱和半干旱地面积约占耕地总面积的 75%, 盐碱地所占的比率也达到 6.7% 并且分布遍及全国各地。对于植物来说, 利用在细胞内积累可溶化合物来达到耐干旱和耐盐碱的机制是一致的, 所以利用这些植物的生理特点克服干旱和盐碱带来的危害, 已经成为提高农产品产量和质量的主要研究领域之一。其中利用生物工程技术来培育抗旱、抗盐碱的农作物品种被认为是解决之一问题的有效途径之一。

自然界中存在一些抗盐碱、抗旱植物, 它们在长期抵御外界干旱和盐碱胁迫环境下形成了一定的适应机制。其中, 最为常见的适应机制是积累与代谢相容的渗透保护性物质, 如多元醇类、脯氨酸和季氨类化合物等^[1]。植物甜菜碱是季氨类化合物的一种, 被认为生物体中起无毒渗透保护作用的最主要的细胞相溶性物质。甜菜碱不仅能使细胞在干旱和盐碱等胁迫下与环境保持渗透平衡, 而且具有稳定许多代谢过程中的蛋白质酶类结构的能力, 使这些酶在渗透胁迫下能继续保持活性^[2]。植物中的甜菜碱一旦被合成就不再被进一步代谢, 积累在细胞中作为永久性或半永久性渗透调节剂。植物内甜菜碱的合成途径相对简单, 主要包含两步氧化反应, 涉及到由胆碱单加氧酶(CMO)催化胆碱形成甜菜碱醛, 而后由甜菜碱醛脱氢酶(BADH)催化形成甜菜碱, 其中 BADH 是合成甜菜碱的关键酶^[3]。有关这 2 个基因遗传转化已经有一些报道, 表明这些转基因作物的抗逆性得到明显的提高^[4-8]。然而有关甜菜碱醛脱氢酶转化棉花的研究尚未见报道。我们把菠菜中的 *BADH* 基因导入陆地棉中过量表达, 研究该基因能否在异源植物棉花中正常表达以及表达产物是否具有甜菜碱醛脱氢酶活性, 同时验证该基因是否能够提高棉花的抗逆性, 为棉花抗逆性育种提供种质材料。

1 材料与方法

1.1 植物材料、菌株、质粒

用作转基因的棉花品种是中棉所 35(*Gossypium*

hirsutum L.cv.Z35); 大肠杆菌(*Escherichia coli*)菌株为 DH5 α , 根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)菌株为 LBA4404, 抗性筛选剂为利福平(Rif), 表达载体为 pBin438, 抗性标记为卡那霉素(Kn⁺), 以上菌株和载体由本实验室保存。克隆载体为 pGEM Teasy(Promaga)。

1.2 植物表达载体的构建

根据 GenBank 公布的菠菜甜菜碱醛脱氢酶基因(*Spinacia oleracea* betaine aldehyde dehydrogenase, *SoBADH*; GenBank Accession No. AY156694)序列, 设计引物扩增出该基因的开放阅读框(1494 bp), 并在 5' 加上 ACC 组成具有 ACCATGG 的 Kozak 序列来提高基因的表达, 在终止密码子前加上 6 \times His 标签(His-tagged)碱基序列, 使该基因表达的蛋白的 C 端融合有 6 \times His 标签便于蛋白表达的检测。用 *Bam*H I 和 *Sal* I 两个限制性内切酶引入到植物表达载体 pBin438 中, 构建成植物表达载体 pBSB(图 1), 由农杆菌 LBA4404 进行遗传转化。

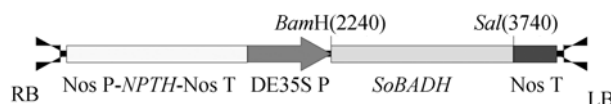


图 1 pBSB 载体的 T-DNA 结构示意图

Fig. 1 T-DNA segment bound by the left (LB) and right borders (RB) of the binary vectors

DE35S P: cauliflower mosaic virus 35S promoter with double enhancers; Nos P, Nopaline synthase gene promoter; Nos T, nopaline synthase gene terminator; NPTII: the neomycin phosphotransferase II; LB: the left border; RB: the right borders

上述所有的基因操作的具体方法参照《分子克隆》^[9]所述进行; 限制性内切酶和其他工具酶均购自 NEB 公司。

1.3 转基因棉花植株的分子鉴定

用含 pBSB 的农杆菌转化子转化棉花的生产品种中 35, 具体转化方法和转基因棉花植株的筛选参照 Wu 等^[10]报道的方法。

1.3.1 转化再生植株的 PCR 检测

棉花 DNA 提取按 Paterson 等^[11]所述方法进行, *SoBADH* 基因的 PCR 特异引物为: P1 (5' -3'): CGCA

TACCCGTCATCAATCC; P2(5' -3'): AATGCTCAG GACGGGAACC 这一对引物的扩增产物应为 1028 bp 左右的片段, 以上引物由北京三博远志生物有限责任公司合成。PCR 扩增条件是: 95°C 预变性 3 min; 94°C 变性 50 s, 58°C 退火 50 s, 72°C 延伸 50 s, 32 个循环; 72°C 延伸 5 min, 16°C 保存。

1.3.2 Southern blotting 分析

取 20 μ g DNA 加入 60 单位的 *Xho* I 和 5 μ L 10 \times 限制性内切酶缓冲液, 加无菌重蒸水至总体积为 50 μ L, 37°C 保温过夜。取出 5 μ L 酶切液点样, 观察是否酶切完整, 如果酶切完全, 在剩余的酶切液中加入 5 μ L 上样缓冲液进行点样, 在 0.8% Agarose 胶上以 2 V/cm 的电压进行电泳分离 DNA。电泳完成后, 进行变性、转膜(尼龙膜, Hybond-N⁺, Amersham, USA)等过程均参照《分子克隆实验指南》一书^[9]所述进行, 所用探针为用 α -³²P-dCTP 和 Ready To Go DNA 标记试剂盒标记的 *SoBADH* 扩增产物片段 (1028 bp)。

1.3.3 Northern blotting 分析

用异硫氰酸胍法^[12], 抽提转基因棉花和对照的总 RNA。每个泳道的上样量为 40 μ g 总 RNA, RNA 经 1% 甲醛-MOPS 琼脂糖凝胶电泳后, 转至尼龙膜 (Hybond-N⁺, Amersham, USA)。所用探针为用 α -³²P-dCTP 和 Ready To Go DNA 标记试剂盒标记的 *SoBADH* 扩增产物片段 (1028 bp)。

1.3.4 Western blotting 分析

棉花的蛋白提取、电泳、转膜和杂交等参见 Wu 等^[13]报道的方法。将膜转入一抗反应液(单克隆 His·Tag 抗体, Cat. No. 70974-3, Novagen)中, 室温反应 1 h; 洗去未反应的抗体, 然后将膜置于二抗 (Anti-Mouse IgG (H+L), HRP Conjugate, Cat. No. W4021, Promega)反应液中, 反应 1 h, 洗干净膜后在暗室里将膜置于 Western blotting 超敏发光液(北京普利莱基因技术有限公司, Cat. No. P1010)中显色, 等到观察到有荧光带出现, 用 X-光片压片或直接照相, 经冲洗后获得清晰图片。

1.4 转基因棉花的 *SoBADH* 酶活性和抗逆性分析

1.4.1 转基因棉花的 *SoBADH* 酶活性分析

转基因棉花的甜菜碱醛脱氢酶的活性检测根据甜菜碱醛在该酶的作用下生成甜菜碱后与 NAD⁺ 反应而消耗 NAD⁺ 的原理来测定的, 方法主要参考

Weretilnyk and Hanson^[14]报道, 根据棉花的实际情况稍作改动。取 500 mg 叶片组织在液氮中充分研磨成粉末, 加入 1 mL 蛋白提取液放置冰上 1 h, 蛋白提取液为 50 mmol/L Tris-HCl(pH8.0), 1 mmol/L EDTA, 5 mmol/L DTT。4°C 下 12 000 g 离心 10 min, 吸取上清酶液备用。用 Bradford 法测定酶液的蛋白浓度。酶反应体系总体积为 1 mL, 含有 50 mmol/L Tris-HCl(pH8.0), 1 mmol/L EDTA, 5 mmol/L DTT, 1 mmol/L 甜菜碱醛(Sigma), 1 mmol/L NAD⁺ 和含 1 mg 总蛋白的酶液, 反应 10 min 后在 340 nm 波长下比色测定。一个单位的甜菜碱脱氢酶活性(u)等于单位分钟内每毫克总蛋白酶液消耗 1 nmol NAD⁺ (1 nmol NAD⁺/min/mg protein)。

1.4.2 转基因棉花的耐盐性分析

未转基因棉花中 35 为对照, 转基因棉花株系 C2 和 C5 一起种植在花盆里, 蛭石和营养土 1:1。当出现 3 片真叶时, 苗高约 10 cm, 进行盐胁迫处理, 开始用 50 mmol/L 的 NaCl 溶液浇灌, 5 天内提高到 300 mmol/L 浓度进行浇灌, 连续胁迫处理 10 天后, 观察植株生长情况, 统计株高和地上部分的单株鲜重。每个处理 10 株, 实验重复 3 次。

1.4.3 转基因棉花的抗冻性分析

植物的抗冻性是根据叶片在低温下电解质的泄漏情况来判断, 测定的方法主要参考 Huang J 等人^[8]的报道。转基因棉花和非转基因对照种植于钵内, 当小苗具有 4~5 真叶时, 采取完全展开的叶片, 打孔器打成小圆片(直径为 1 cm)放入玻璃管中。然后把这些玻璃管放入-1°C 的冰柜中 1 h, 接着放入-5°C 的冰柜中 2 h, 再把它们放入 4°C 冰箱中解冻过夜; 最后在每个玻璃管中加入 10 mL 去离子水, 在 25°C 下温浴 6 h 后, 用电导度计(YSI-35 Conductivity meter, YSI, US)直接量测每个玻璃管内溶液的电导率。叶片的总泄漏电导率是把叶片直接放入-70°C 的液氮中冷冻后在 25°C 下溶解后的测定值, 利用叶片的细胞膜泄漏电解质的相对电导率来鉴定植物的抗冻性。每个株系为 8 个小圆片, 试验重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 转基因棉花的分子鉴定

棉花农杆菌介导的遗传转化和组织培养等参照 Wu 等^[10]方法进行。2005 年我们共获得 68 个转基因

再生株, 它们成功地被移栽在网室内。用 PCR 初步筛查, 结果表明有 61 株为阳性再生株。接着对其中能够正常开花授粉的 45 株进行 Southern blotting 分子鉴定, 确定 *SoBADH* 基因已经整合到棉花的基因组中, 有 27 株为单拷贝插入, 因此再次验证了农杆菌转化棉花的优点之一是单拷贝插入的比率较大。图 2 显示部分转基因株的分子检测结果。

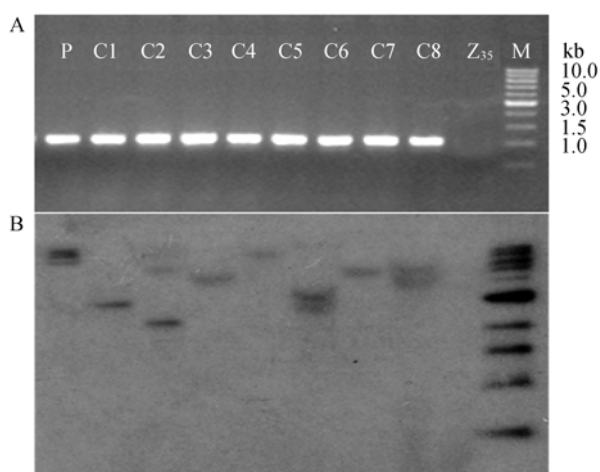


图 2 转基因棉花的 PCR 筛选和 Southern blotting 鉴定
Fig. 2 The detection of the PCR and analysis of Southern blotting of the transgenic plants

(A) The detection of PCR. P: the binary vector pBSB; C1~C8: the transgenic plants; lane Z35: non-transgenic plant; M: 1 kb marker (NEB)

(B) The analysis of Southern blotting. plasmid DNA and cotton total DNA were digested by *Xho* I. samples of all the lane is the same as A

2.2 转基因棉花株系的表达分析

对 C2、C3、C4、C5 几个转基因株的纯合株系的 *SoBADH* 基因表达情况进行进一步的分析(图 3)。结果表明 4 个株系均有 *SoBADH* 基因 RNA 的表达, 其中 C2 和 C5 的表达量较高; 对 4 个株系利用 His-Tag 抗体进行蛋白表达检测发现它们均有 *SoBADH* 蛋白的表达, 但表达量存在较大的差异, C3 的表达量只有 C4 的 10% 左右。并且从图 3 中可以发现 *SoBADH* 基因在同一转化株系中 mRNA 的表达量和蛋白的表达量不是完全一致, 如 C4 的 mRNA 表达量不是最高, 但其蛋白表达量却是最高。

2.3 转基因棉花的 *SoBADH* 活性分析

对转基因棉花的 4 个株系进行甜菜碱醛脱氢酶活性的测定表明, 4 个株系的活性差异较大, 但均极显著的高于非转基因对照, 具体见图 4。非转基因棉花对照也存在少许的甜菜碱醛脱氢酶的活性。表明

菠菜的甜菜碱醛脱氢酶基因在棉花中正常表达, 并且具有较高的活性。

2.4 转基因棉花的耐盐性分析

对转基因株系和对照的盐处理 10 天后, 发现它们差异很大, 转基因株系明显的具有耐盐性能, 测量这些棉花植株的高度和对其地上部分的鲜重进行称量(图 5), 结果表明转基因株系在盐处理情况下株高比非转基因棉花对照高 2~3 cm, 得到极显著水平, 和没有经过盐处理的对照高度相差不显著。地上部分鲜重的影响基本一致, 在盐处理后转基因棉花株系的地上部分鲜重重量为对照的 150% 左右, 得到极显著水平。盐处理后的转基因株系的平均鲜重也高于未用盐处理的对照鲜重, 可能是盐处理后增加了植株的湿重造成的。

2.5 转基因棉花的抗冻性分析

转基因棉花的抗冻性与植物叶片在低温下细胞膜的通透性存在直接的相关性, 甜菜碱作为一种抗渗透剂能够维持低温下细胞膜的正常构象, 阻碍电解质的泄漏, 从而提高植物的抗冻性能。所以可以利用低温下细胞内的离子泄漏量来反应细胞膜的抗冻性。本研究试验结果表明转基因棉花的 2 个株系的抗冻性极显著的高于非转基因棉花, 具体结果见图 5, 虽然在 -5°C 时相对电导率也高达 50%, 但也显著低于非转基因棉花中棉所 35, 在 -1°C 时, 转基因棉花的相对电导率极显著的低于非转基因棉花。实际上转基因棉花在 4 叶期时, 整株放在 -1°C 冰箱中 5 h 后转到室温下, 基本能恢复生长, 受到冻害较小; 而对照组受到冻害较严重, 恢复后生长不好。

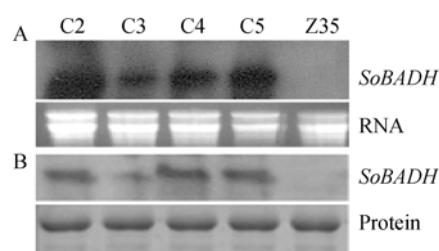


图 3 转基因棉花的表达分析

Fig. 3 The expression analysis of transgenic cotton lines

(A): Northern blotting analysis. C2~C5: transgenic cotton lines; Z35: non-transgenic cotton cultivar; upper line: mRNA of *SoBADH* gene; lower line: total RNA of the cotton

(B): Western blotting analysis; the samples of all the lanes is the same as the A. upper line, the *SoBADH* protein, lower line, one of the protein band of the cotton stained by Coomassie Brilliant Blue

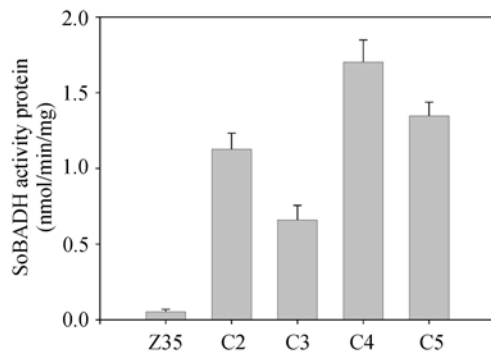


图4 转基因棉花的 SoBADH 的活性检测

Fig. 4 The analysis of SoBADH activity

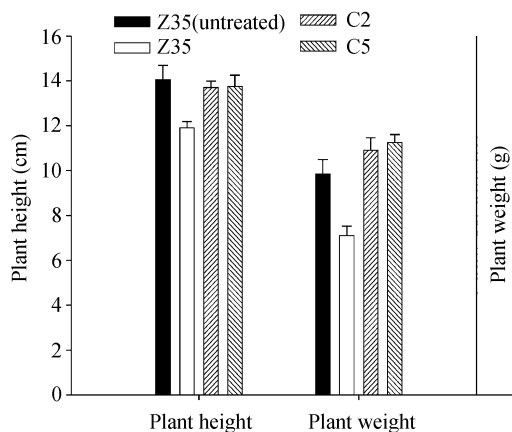


图5 盐处理后转基因棉花株系的株高和地上部分的鲜重分析

Fig. 5 The analysis of plant height and plant weight of the transgenic cotton lines

Watering with 300 mmol/L NaCl for salinity stress for 10 d and testing the plant height and fresh weight

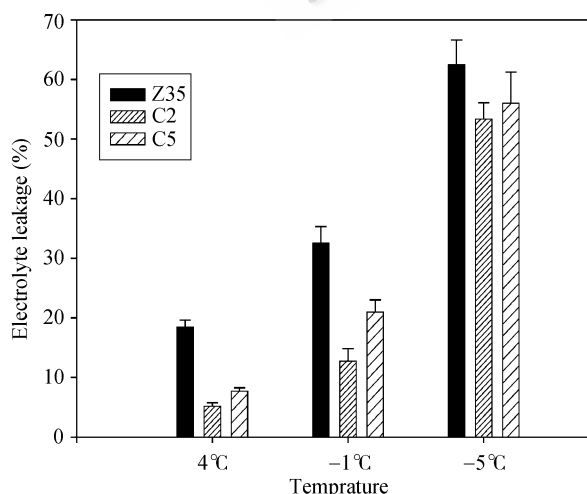


图6 低温处理后转基因棉花的叶片电解质渗漏液的相对电导率

Fig. 6 Relative conductivity of leaf electrolyte leakage of the transgenic cotton lines

3 讨论

本研究把菠菜的甜菜碱醛脱氢酶基因转入棉花中,过量表达后发现该基因在异源植物棉花中能够表达,具有较高的酶活性,并提高了棉花的耐盐性和抗冻性。这些结果在前人的研究中也给予相同的报道,如 Holmstrom 等^[15]将大肠杆菌 *BADH* 基因导入烟草,转基因植株具有了 *BADH* 酶的活性。Rathinasabapathi 等^[16]将来自菠菜和甜菜的 *BADH* 基因导入烟草,转基因烟草中的耐盐性提高,叶片细胞可活跃地将外源甜菜碱醛转变为甜菜碱。刘风华等^[5]将从山菠菜中克隆的 *BADH* 基因导入烟草,获得的转基因烟草抗盐性都有一定程度的增强。Ishitani 等^[4]把大麦 *BADH* 基因转入的烟草植株中也得到类似结果。最近司怀军等^[17]报道把菠菜的 *BADH* 基因转入烟草中能使烟草的耐盐性提高。由这些报道可以看出不同 *BADH* 基因的来源在植物过量表达后均对植物的耐盐性由一定程度的提高。

我们的研究结果表明转菠菜甜菜碱醛脱氢酶基因棉花的抗冻性能明显,这充分证明了转基因株在低温下细胞膜的通透性能较好,这可能使甜菜碱对维持细胞膜的结构有一定程度的保护作用。上面提到的有关甜菜碱醛脱氢酶的研究报道没有很好地给出这个基因的抗冻性结果。

本研究在构建 *SoBADH* 基因植物表达载体时,在 5' 加上了具有 ACCATGG 的 Kozak 序列来提高基因的表达。在获得的转基因棉花中甜菜碱醛脱氢酶基因的 RNA 和蛋白的表达均较高,并且甜菜碱醛脱氢酶的活性也较高,这些均说明了增加 Kozak 序列可能对外源基因在植物中的表达具有一定的上调作用。同时在 *SoBADH* 蛋白的 C 端融合有 6×His 标签,这使我们利用 His-tag 抗体较为方便地对转基因的蛋白表达进行检测。这是一种可行的方法。

我们在不同的转基因株系中发现外源插入基因的表达量存在这较大的差异。说明虽然均是用 CaMV35S 启动子,但基因的不同插入位点对基因的表达是具有重要的影响。另外,我们还发现转基因棉花中外源 *SoBADH* 基因的 RNA 表达量和蛋白表达量是不一致的。究其原因可能是 RNA 表达后还存在一个加工的过程造成的。

我们获得转菠菜甜菜碱醛脱氢酶基因棉花具有

一定的耐盐性，同时对低温胁迫也有较好的适应，可以作为抗逆育种的种质材料。

REFERENCES

[1] Yancey PH, Clark ME, Hand SC, *et al.* Living with water stress: Evolution of osmolyte systems. *Science*, 1982, **217**: 1214–1222.

[2] Russell BL, Rathinasabapathi B, Hanson AD. Osmotic stress induces expression of choline monooxygenase in sugar beet and *Amaranth*. *Plant Physiol*, 1998, **116**: 859–865.

[3] Hanson AD, Rhodes D. ¹⁴C Tracer evidence for synthesis of choline and betaine via phosphoryl base intermediates in salinized sugarbeet leaves. *Plant Physiol*, 1983, **71**: 692–700.

[4] Ishitani M, Nakamura T, Han SY, *et al.* Expression of the betaine aldehyde dehydrogenase gene in barley in response to osmotic stress and abscisic acid. *Plant Mol Biol*, 1995, **27**: 307–315.

[5] Liu FH, Guo Y, Gu DM, *et al.* Salt tolerance of transgenic plants with BADH cDNA. *Acta Genet Sin*, 1997, **24**: 54–58.

刘风华, 郭岩, 谷冬梅, 等. 转甜菜碱醛脱氢酶基因植物的耐盐性研究. *遗传学报*, 1997, **24**: 54–58.

[6] Sakamoto A, Murata NA. Metabolic engineering of rice leading to biosynthesis of glycinebetaine and tolerance to salt and cold. *Plant Mol Biol*, 1998, **38**: 1011–1019.

[7] McNeil SD, Nuccio ML, Hanson AD. Betaines and related osmoprotectants. Targets for metabolic engineering of stress resistance. *Plant Physiol*, 1999, **120**: 945–949.

[8] Huang J, Hirji R, Adam L, *et al.* Genetic engineering of glycinebetaine production toward enhancing stress tolerance in plants metabolic limitations. *Plant Physiol*, 2000, **122**: 747–756.

[9] Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd eds, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

[10] Wu JH, Zhang XL, Nie YC, *et al.* High-efficiency transformation of *Gossypium hirsutum* embryogenic calli mediated by *Agrobacterium tumefaciens* and regeneration of insect-resistant plants. 2005, *Plant Breed*. **124**: 142–146.

[11] Paterson AH, Curt LB, Wendel JF. A rapid method for extraction of cotton (*Gossypium* spp.) genomic DNA suitable for RFLP and PCR analysis. *Plant Mol Biol Rep*, 1993, **11**: 112–117.

[12] Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*, 1987, **162**: 156–159.

[13] Wu Jiahe, Xiaoli Luo, Hongnian Guo, *et al.* Transgenic cotton, expressing *Amaranthus caudatus* agglutinin, confers enhanced resistance to aphids. *Plant Breeding*. 2006, **125**: 390–394.

[14] Weretilnyk EA, Hanson AD. Betaine aldehyde dehydrogenase from spinach leaves: purification, *in vitro* translation of the mRNA, and regulation by salinity. *Arch Biochem Biophys*, 1989, **271**: 56–63.

[15] Holmström KO, Welin B, Mandal A, *et al.* Production of the *Escherichia coli* betaine-aldehyde dehydrogenase, an enzyme required for the synthesis of the osmoprotectant glycine betaine, in transgenic plants. *Plant J*, 1994, **6**(5): 749–758.

[16] Rathinasabapathi B, Burnet M, Russell B, *et al.* Choline monooxygenase, an unusual iron-sulfur enzyme catalyzing the first step of glycine betaine synthesis in plants: prosthetic group characterization and cDNA cloning. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, **94**: 3454–3458.

[17] Si HJ, Zhang N, Wand D. Enhancement of drought and salt resistances in tobacco by transformation of betaine aldehydehydrogenase gene. *Acta Agro Sini*, 2007, **33**(8): 1335–1339.

司怀军, 张宁, 王蒂. 转甜菜碱醛脱氢酶基因提高烟草抗旱及耐盐性. *作物学报*, 2007, **33**(8): 1335–1339.



本 期 广 告 索 引

企业	版位	企业	版位
默克化工技术(上海)有限公司	封底	生物谷网站	内页
Roche 诊断产品有限公司	封二	上海国强生化工程装备有限公司	内页
富士胶片(中国)投资有限公司	封三, 内页	镇江东方生物工程公司	内页
美国 Promega 公司	内页	赛默飞世尔科技有限公司	内页
杭州博日科技有限公司	内页	汕头大学多学科研究中心招聘启事	内页