

产甘油假丝酵母 *TRP1* 基因的克隆与功能分析

沈 微^{1*} 王正祥¹ 李艳丽² 王 丹¹ 饶志明¹ 方慧英¹ 诸葛斌¹ 诸葛健¹

(1. 江南大学生物工程学院工业生物技术教育部重点实验室 江苏 无锡 214122)

(2. 浙江省农业科学院植物保护与微生物研究所 浙江 杭州 310021)

摘 要: 产甘油假丝酵母(*Candida glycerinogenes*) WL2002-5 是我国发酵甘油生产菌种, 具有高产甘油和耐高渗透压的优良性能。本文采用遗传互补的方法从产甘油假丝酵母基因文库中克隆了 *TRP1* 基因(*CgTRP1*)。序列分析显示, 该基因编码区全长 735 bp, 编码的磷酸核糖氨基苯甲酸同分异构酶(*CgPRAI*)氨基酸序列与其他酵母来源的 *PRAI* 蛋白同源性在 32.9%~49.2%之间。功能互补实验显示, *CgTRP1* 基因在高拷贝情况下可以互补酿酒酵母 *trp1* 基因功能但在低拷贝情况下只能部分互补酿酒酵母 *trp1* 基因功能, 是一条功能明确、结构完整的酵母新基因。在 *CgTRP1* 基因下游发现另一蛋白编码基因, 编码的氨基酸序列与酵母无机焦磷酸酶有很高的相似性。

关键词: 产甘油假丝酵母, 磷酸核糖氨基苯甲酸同分异构酶, *trp1* 缺陷

Cloning and Functional Analysis of the *Candida glycerinogenes TRP1* Gene

SHEN Wei^{1*} WANG Zheng-Xiang¹ LI Yan-Li² WANG Dan¹ RAO Zhi-Ming¹
FANG Hui-Ying¹ ZHUGE Bin¹ ZHUGE Jian¹

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology of Ministry of Education, School of Biotechnology, Southern Yangtze University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

(2. Institute of Plant Protection and Microbiology, Zhejiang Academy of Agriculture Sciences, Hangzhou, Zhejiang 310021, China)

Abstract: *Candida glycerinogenes* WL2002-5 is an osmotolerant yeast used for the commercial production of glycerol. *TRP1* gene of *Candida glycerinogenes* (*CgTRP1*), encoding phosphoribosyl anthranilate isomerase(*PRAI*) was cloned by complementation of the *trp1* mutation of *Saccharomyces cerevisiae* W303-1A. Sequence analysis revealed the presence of a 735 bp open reading frame(ORF) encoding 244 amino acids protein, which shares 32.9 %~49.2% amino acids sequence similarity to *PRAI* proteins from other species of *Saccharomycetales*. Functional analysis reveal, high copy number of *CgTRP1* can complement the *trp1* mutation of *S. cerevisiae* completely, but low copy number of *CgTRP1* can only partially complement the *trp1* mutation. Downstream from *CgTRP1* was found a gene highly similar to *IPPI* gene which encoding inorganic pyrophosphatase. The nucleotides have been deposited in the GenBank database under accession No. EU078909.

Keywords: *Candida glycerinogenes*, Phosphoribosyl anthranilate isomerase, *trp1* mutation

基金项目: 国家 863 计划项目(No. 2006AA10Z307)

* 通讯作者: ✉ microshen@gmail.com

收稿日期: 2009-04-26; 接受日期: 2009-07-09

产甘油假丝酵母 (*Candida glycerinogenes* WL2002-5) 是我国发酵甘油工业的生产菌种, 具有耐高渗和过量合成甘油的优良性能^[1]。近年来, 产甘油假丝酵母的遗传转化体系已经成功建立起来^[2], 并通过基因敲除等方法对其高产甘油和耐高渗的机理进行了深入的研究, 发现了 3-磷酸甘油脱氢酶、磷酸丙糖异构酶等多个与高产甘油及耐高渗有密切关系的基因^[3,4]。这些研究显示, 甘油合成能力的提高涉及到多个基因的改造, 而多个基因的改造又必然需要多次使用遗传标记。然而, 到目前为止还只发现了腐草霉素及其抗性基因这一对在产甘油假丝酵母中有效的遗传标记, 许多在其他酵母中常用的标记基因如 G418 抗性、潮霉素抗性 etc 由于其具有很高的耐受性而无法使用^[2], 因此寻找更多有效的标记基因对该酵母的改造具有重要意义。磷酸核糖氨基苯甲酸同分异构酶 (Phosphoribosyl anthranilate isomerase, PRAI) 催化由分支酸到色氨酸的生物合成途径的第 3 步, 由于其编码基因 *TRP1* 突变而产生的 *trp1* 缺陷型突变株相对比较容易获得, 而 *TRP1* 基因又能有效互补宿主酵母的 *trp1* 缺陷, 因此 *TRP1* 基因是酵母遗传工程中最常用的标记基因之一^[5-7]。

本文采用遗传互补的方法, 克隆了完整的产甘油假丝酵母 *TRP1* 基因 (*CgTRP1*), 为建立以 *TRP1* 基因为遗传标记的产甘油假丝酵母遗传转化体系奠定了基础。

1 材料和方法

1.1 菌株及培养条件

产甘油假丝酵母 WL2002-5 由江南大学工业微生物研究室分离保藏, 并用作染色体 DNA 来源。产甘油假丝酵母基因文库为本研究组构建^[8,9], 是在质粒 YEp51 (含 *LEU1* 标记) 基础上构建的, 宿主菌为大肠杆菌 DH5 α 。酿酒酵母 W303-1A (MAT α *leu2-3 ura3-1 trp1-1 his3-11 ade2-1 can1-100*) 由瑞士 Goteborg 大学 Hohmann 博士惠赠, 其营养缺陷型标记 *trp1* 用于产甘油假丝酵母 *TRP1* 基因的克隆。宿主菌大肠杆菌 JM109 为复旦大学遗传学教研室惠赠。大肠杆菌细胞培养在含 100 μ g/mL 氨苄青霉素的 LB 培养基中 (1% 蛋白胨, 0.5% 酵母提取物, 0.5% 氯化钠), 培养温度为 37 $^{\circ}$ C。酵母细胞培养在 YPD 培养基 (1% 酵母提取物, 2% 蛋白胨, 2% 葡萄糖) 或选择性 SD 培养基中 [0.67% 酵母氮基 (DIFCO,

O/O, 无氨基酸), 2% 葡萄糖, 另外添加亮氨酸、尿嘧啶、色氨酸、组氨酸和腺嘌呤适量], 并根据筛选需要省略其中部分氨基酸或碱基。

1.2 酶和试剂

耐热 DNA 聚合酶 Pfu 为上海生工生物工程公司产品、连接酶等为宝生物工程 (大连) 有限公司产品。PCR 产物纯化试剂盒、从琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段的试剂盒为上海华舜生物工程有限公司产品。引物由上海赛百盛基因技术有限公司合成。

1.3 DNA 重组及序列分析

酿酒酵母转化按 Gietz 等建立的醋酸锂转化法进行, 从酿酒酵母中提取质粒按 Hoffman 等建立的方法进行。DNAMAN 序列分析软件用于序列的数据分析, Clustal X1.81 软件用于序列比对, TreeView 软件用于绘制进化树。在 NCBI 网站 (www.ncbi.nlm.nih.gov) 中利用 Blast 软件进行核苷酸及蛋白质同源性搜索。

1.4 产甘油假丝酵母 *TRP1* 基因的克隆

从产甘油假丝酵母 YEp51 基因组文库提取基因组质粒, 利用醋酸锂转化法, 转化酿酒酵母 W303-1A。利用功能互补, 在不含色氨酸的选择性培养基上挑选阳性转化子, 阳性转化子理论上应含有携带产甘油假丝酵母 *TRP1* 基因 (即 *CgTRP1*) 的质粒。提取阳性转化子质粒, 转化大肠杆菌 JM109, 从重组大肠杆菌中大量提取质粒再转化酿酒酵母 W303-1A, 在不含色氨酸的选择性培养基上获得大量转化子, 说明所获质粒确实含有 *CgTRP1* 基因, 阳性转化子质粒 YEpCgTRP1-2 送大连宝生物工程公司测序。

1.5 产甘油假丝酵母 *TRP1* 基因的功能分析

筛选到 *TRP1* 基因后, 根据 *TRP1* 基因上下游序列设计引物: P01, 5'-ACCGGAATTCCTTCTGTAGATAATCTCTG-3'; P02, 5'-ACCGGAATTCCTTACGAACCATCCATTC-3'。以阳性转化子 YEpCgTRP1-2 为模板进行 PCR 扩增, 扩增片段包含 *CgTRP1* 基因编码区 (ORF) 和上下游部分片段。将扩增片段用限制性内切酶 *EcoR* I 酶切后, 与经同样酶切的酿酒酵母高拷贝质粒 YEplac195 (含 *URA3* 标记)^[10]、酿酒酵母低拷贝质粒 YCp50 (含 *URA3* 标记)^[11] 连接, 所获重组质粒 YEpCgTRP1 和 YCpCgTRP1 分别转化酿酒酵母, 在不含色氨酸或尿嘧啶的 SD 平板上筛选转化子, 转化子分别在不含色氨酸的 SD 平板上划线培养, 观察生长情况。

2 结果与讨论

2.1 产甘油假丝酵母 *TRP1* 基因的克隆

将产甘油假丝酵母基因组文库接种至含氨苄青霉素的 LB 液体培养基中, 过夜培养后大量提取质粒, 转化 *TRP1* 基因缺陷的酿酒酵母 W303-1A, 在不含色氨酸的合成培养基上获得 2 个转化子。从酿酒酵母转化子中提取质粒转化大肠杆菌, 又从大肠杆菌转化子大量提取质粒后再次转化酿酒酵母 W303-1A, 结果在不含色氨酸的合成培养基上获得了数百个转化子。这说明上述两个质粒中可能含有产甘油假丝酵母 *TRP1* 基因。取其中编号为 YEpCgTRP1-2 的质粒测序, 结果显示该质粒含有一 3969 bp 的插入片段(美国国家生物技术信息中心登录号: EU078909)。对这一插入片段的序列分析显示, 其中含一个 735 bp 和一个 858 bp 的开放阅读框。利用 Blast 软件将 735 bp 的开放阅读框编码的氨基酸序列与美国国家生物信息中心收集的蛋白序列进行相似性搜索比对, 结果显示该序列与酵母磷酸核糖氨基苯甲酸同分异构酶(PRAI)有较高的相似性, 其中与巴斯德毕赤酵母的 PRAI 蛋白相似性最高, 为 49%。

2.2 产甘油假丝酵母 *TRP1* 基因在酿酒酵母中的功能分析

以 P01 和 P02 为引物, 质粒 YEpCgTRP1-2 为底物, PCR 获得一个 1235 bp 的片段, 该片段含有 *CgTRP1* 基因的编码区(ORF), 以及编码区上游 300 bp 和下游 200 bp。将上述片段用 *EcoR* I 酶切后插入穿梭质粒 YEplac195 多克隆位点, 构建重组质粒 YEpCgTRP1。用质粒 YEpCgTRP1 转化酿酒酵母 W303-1A, 在不含尿嘧啶和不含色氨酸的合成培养基上均能获得大量转化子。作为对照, 质粒 YEplac195 转化酿酒酵母 W303-1A 则只能在不含尿嘧啶的合成培养基上获得转化子, 在不含色氨酸的合成培养基上不能形成转化子(图 1)。综合实验和序列比对的结果, 上述 1235 bp 的片段确实含有产甘油假丝酵母 *TRP1* 基因(*CgTRP1*), 其编码的蛋白为产甘油假丝酵母磷酸核糖氨基苯甲酸同分异构酶(CgPRAI)。

YEplac195 在酿酒酵母中是一个高拷贝质粒, 拷贝数一般可达 50 个/细胞。为进一步分析 *CgTRP1* 基因在酿酒酵母中的表达情况, 我们将 *CgTRP1* 基因与酿酒酵母低拷贝质粒 YCp50 连接, 获得重组质

粒 YCpCgTRP1。在重组大肠杆菌中大量提取质粒 YCpCgTRP1, 转化酿酒酵母, 意外的是多次转化后一直没能在不含色氨酸的合成培养基上获得转化子, 而在不含尿嘧啶的合成培养基上则得到了 6 个转化子, 提取这 6 个转化子所含质粒, 序列分析显示, 质粒均含有 *CgTRP1* 基因。将上述 6 个转化子在不含色氨酸的合成培养基上划线培养, 3 d 后 YCpCgTRP1 转化子只能形成细小的菌落。作为对照, YCp50 的转化子则不能形成菌落, 而 YEpCgTRP1 的转化子以及含有酿酒酵母 *TRP1* 基因的低拷贝质粒 pSH37 的转化子则能形成正常菌落(图 1)。分析上述现象, *CgTRP1* 基因在酿酒酵母中能表达但表达水平较低。YEplac195 系列载体在酿酒酵母中具有较高拷贝数, *CgTRP1* 基因的数量弥补了单基因表达水平低的问题, 所以其转化子生长基本正常, 而 YCp50 质粒在酿酒酵母中的拷贝数一般只有 1~2 个, 所以 *CgTRP1* 基因表达的产物不能完全满足缺陷型酵母对色氨酸的需求, 从而表现出生长缓慢。

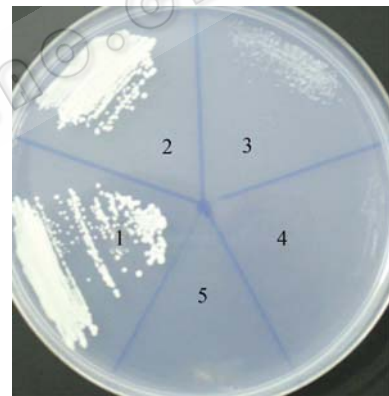


图 1 酿酒酵母 W303-1A 不同质粒转化子在 SD 平板上的生长情况

Fig. 1 The growth characterization of *S. cerevisiae* W303-1A transformed with different plasmid

注: 培养基为 SD 合成培养基, 其中添加了酿酒酵母 W303-1A 生长所必须的除色氨酸外的生长因子, 转化子所含质粒为: 1: YEplac195; 2: YCpCgTRP1; 3: pSH37; 4: YEplac195; 5: YCp50. Note: SD culture medium containing all growth factors necessary for *S. cerevisiae* W303-1A except tryptophan, plasmid contained in the transformants: 1: YEplac195; 2: YCpCgTRP1; 3: pSH37; 4: YEplac195; 5: YCp50.

2.3 *CgTRP1* 基因的序列分析

CgTRP1 基因含有一个 735 bp 的编码区, 编码 244 个氨基酸残基的蛋白质, 和典型的酵母基因相似, 编码区没有发现内含子。在编码区上游 -164 和 -160 碱基之间的碱基为 TATAG, 与酵母启动子

<http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>

区域特征序列 TATAA 相似,在翻译终止密码子 TAA 下游 21~26 碱基之间为 AAAAAA,与酵母 RNA 腺嘌呤末端转移酶识别序列(PolyA 信号)一致^[12]。*CgTRP1* 基因翻译起始密码子附近的序列为 ACGTAGATGG,其 +1 和 -3 位碱基都不是 A,与大多数酵母基因所具有的 Kozak 结构^[13,14]的特点完全不符合,其中 -3 位点碱基是 T,而这个碱基在 -3 位是出现频率最低的碱基^[14]。为确认这一结果不是由于测序等原因带来的误差,我们以产甘油假丝酵母染色体 DNA 为模板, P01 和 P02 为引物,两次 PCR 扩增,将所获得的 PCR 片段测序,结果显示其 -3 位碱基确实是 T。酵母蛋白编码基因 Kozak 结构与 mRNA 翻译起始效率有关,*CgTRP1* 基因的这一结构特征显示,其翻译起始效率可能比较低。密码子组成是另一个与翻译效率有密切关系的特征, Mason 等研究表明,酵母中高表达的基因一般都有明显的密码子使用偏好性^[15]。对 *CgTRP1* 基因密码子使用情况分析显示,在 61 个实义密码子中, *CgTRP1* 基因中未出现的只有 5 个,这是目前已经克隆的 6 条产甘油假丝酵母基因中最少的。其他 5 条基因使用的密码子均少于 *CgTRP1* 基因,同时这些基因的 -3 位碱基均为 A,基本符合 Kozak 结构的特征(表 1)。综上所述, *CgTRP1* 基因翻译起始区不具备 Kozak 结构的特征,而密码子使用的偏好性也低于其他基因,因此该基因可能是一个翻译效率较低的基因。

由 *CgTRP1* 基因推测的产甘油假丝酵母磷酸核糖氨基苯甲酸同分异构酶(CgPRAI)与已报道的酵母目酵母 PRAI 蛋白序列比对显示, CgPRAI 蛋白含有 PRAI 蛋白家族所具有的全部保守区,与其他酵母

PRAI 蛋白氨基酸序列相似性在 32.9%~49.2%之间(表 2)。酵母目酵母 PRAI 蛋白的亲缘关系如图 2 所示。由图 2 可见,酵母 PRAI 蛋白进化树聚成 3 个分支,3 种不属于酵母科的酵母(*A. adenivorans*、*Y. lipolytica*、*L. starkyii*)和 *E. gossypii* 组成一个分支,其余 14 种酵母组成另两个分支,它们分别属于酵母科和假丝酵母属。产甘油假丝酵母和白假丝酵母与巴斯德毕赤酵母等酵母科酵母形成一个分支。和酵母分类的其他属相比,假丝酵母属有很大的异源性,不同种的假丝酵母在亲缘关系上有时并不接近。CgPRAI 蛋白进化树显示,产甘油假丝酵母与酵母科酵母有较近的亲缘关系。

2.4 *CgTRP1* 基因下游序列分析

对克隆到的 3969 bp 的片段全序列进行分析显示,在 *CgTRP1* 结构基因下游有一个 858 bp 的编码区,编码 285 个氨基酸残基的多肽链,其氨基酸序列与其他酵母来源的无机焦磷酸酶(Inorganic pyrophosphatase)有很高的同源性。多重序列比对显示,不同酵母来源的无机焦磷酸酶氨基酸序列有多个高度保守区,而本文克隆获得的这一多肽拥有所有的保守区。据此该基因被命名为 *CgIPPI*。

表 2 产甘油假丝酵母 PRAI 蛋白与其他酵母 PRAI 蛋白序列相似性

Table 2 Similarity of amino acid sequence between PRAI from *C. glycerinogenes* and other yeast

基因来源 Source of the genes	Accession No.	相似性 Similarity(%)
<i>Candida glycerinogenes</i>	EU078909	100
<i>Pichia pastoris</i>	CAA04452	49.2
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CAE 52201	48.3
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	CAC37331	48.3
<i>Saccharomyces kudriavzevii</i>	AAU43745	47.3
<i>Yarrowia lipolytica</i>	CAG82847	46.7
<i>Candida albicans</i>	EAL00157	45.7
<i>Lodderomyces elongisporus</i>	EDK43275	45.1
<i>Pichia anomala</i>	AAO19636	44.8
<i>Pichia stipitis</i>	EAZ63723	44.6
<i>Debaryomyces hansenii</i>	CAG84883	43.9
<i>Candida glabrata</i>	CAG58259	42.1
<i>Arxula adenivorans</i>	CAK11516	41.9
<i>Kluyveromyces lactis</i>	CAG99832	40.3
<i>Eremothecium gossypii</i>	AAS52698	40.1
<i>Pichia guilliermondii</i>	EDK39528	39.5
<i>Kluyveromyces maxianus</i>	ABB69702	38.2
<i>Lipomyces starkyii</i>	CAA92584	32.9

表 1 产甘油假丝酵母不同基因实义密码子使用与翻译起始区附件碱基序列比较

Table 1 Comparison of unused non-stop codons and nucleotides flanking ATG of the genes from *C. glycerinogenes*

基因 Gene	实义密码子 Non-stop codons	ORF 全长(bp) Length of ORF (bp)	ATG 附件碱基 Nucleotide sequence around ATG
<i>CgTRP1</i>	5	735	TAGATGG
<i>CgURA3</i>	10	789	AGGATGG
<i>CgTPI1</i>	16	753	ACAATGG
<i>CgENO</i>	20	1314	ACAATGT
<i>CgIPPI</i>	20	858	ACAATGA
<i>CgL41</i>	29	321	AAAATGG

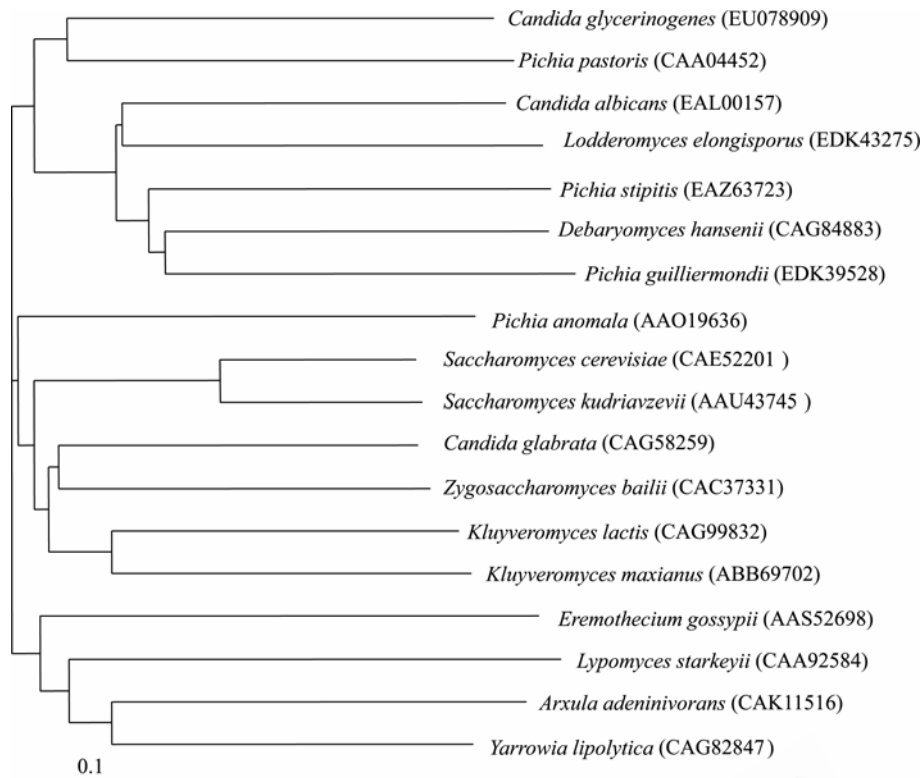


图 2 酵母目酵母 PRAI 蛋白进化树

Fig. 2 The phylogenetic relationship of PRAI proteins of Saccharomycetales

注: 标尺长度代表 10% 的序列差异。

Note: Length of the bar represent 10% sequence diversity.

产甘油假丝酵母的 *TRP1* 基因和 *IPP1* 基因编码区间隔仅 98 bp, 并且方向相反, 同样的基因排列关系也出现在酵母科酵母的 *P. pastoris*、*Z. bailii*、*P. anomala*、*K. lactis*、*E. gossypii* 和 *K. maxianus* 中, 其间隔区分别为 46 bp、17 bp、44 bp、79 bp、22 bp 和 67 bp。与此相反, 在 *S. cerevisiae*、*S. kudriavzevii*、*C. albicans*、*L. elongisporus*、*C. glabrata*、*P. stipitis*、*P. guilliermondii*、*D. hansenii*、*Y. lipolytica*、*A. adeninivorans* 和 *L. starkeyii* 中则未发现同样的关系。由上述分析可见, *TRP1* 基因和 *IPP1* 基因相邻的基因排列关系为部分酵母科酵母所特有。产甘油假丝酵母不属于酵母科, 一个重要原因是该酵母至今未发现其有性型, 因此被划入假丝酵母属, 但这个酵母的 18S 基因序列 (AY584809) 与酵母科的东方伊萨酵母 (*Issatchenkia orientalis*, 其无性型为 *Candida krusei*) 仅有 1 个碱基的差异。Cg*TRP1* 基因和 Cg*IPP1* 基因相邻排列的现象进一步显示, 产甘油假丝酵母和酵母科酵母之间有较近的亲缘关系, 这与本文关于酵母 PRAI 蛋白进化关系分析的结果一致。

参 考 文 献

- [1] Wang ZX, Zhuge J, Fang HY, *et al.* Glycerol production by microbial fermentation: a review. *Biotechnol Adv*, 2001, **19**: 201–223.
- [2] Chen XZ, Fang HY, Rao ZM, *et al.* An efficient genetic transformation method for glycerol producer *Candida glycerinogenes*. *Microbiol Res*, 2008, **163**: 531–537.
- [3] Zhang YG, Shen Wei, Rao ZM, *et al.* Deletion of the *CgTPI* gene encoding triose phosphate isomerase of *Candida glycerinogenes* inhibits the biosynthesis of glycerol. *Curr Microbiol*, 2007, **55**: 147–151.
- [4] Chen XZ, Fang HY, Rao ZM, *et al.* Cloning and characterization of a NAD1-dependent glycerol-3-phosphate dehydrogenase gene from *Candida glycerinogenes*, an industrial glycerol producer. *FEMS Yeast Res*, 2008, **8**: 725–734.
- [5] Toyn JH, Gunyuzlu PL, White WH, *et al.* A counterselection for the tryptophan pathway in yeast: 5-Fluoroanthranilic acid resistance. *Yeast*, 2000, **16**(6): 553–560.
- [6] Kitada K, Yamaguchi E, Arisawa M. Cloning of the *Can-*

<http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>

- didia glabrata* *TRP1* and *HIS3* genes, and construction of their disruption strains by sequential integrative transformation. *Gene*, 1995, **165**: 203–206.
- [7] Ugolini S, Tosato V, Bruschi VC. Selective fitness of four episomal shuttle-vector carrying *HIS3*, *LEU2*, *TRP1* and *URA3* selectable markers in *saccharomyces cerevisiae*. *Plasmid*, 2002, **47**: 94–107.
- [8] Li YL, Shen W, Wang ZX, *et al.* Isolation and sequence analysis of the gene *URA3* encoding the orotidine-5'-phosphate decarboxylase from *Candida glycerinogenes* WL2002-5, an industrial glycerol producer. *Yeast*, 2005, **22**: 423–430.
- [9] 王正祥, 诸葛健. 运用穿梭载体建立产甘油假丝酵母质粒基因文库. *生物技术*, 1998, **8**(2): 9–11.
- [10] Gietz RD, Sugino A. New yeast-*Escherichia coli* shuttle vectors constructed with *in vitro* mutagenized yeast genes lacking six-base pair restriction sites. *Gene*, 1988, **74**: 527–534.
- [11] Rose MD, Novick P, Thomas JH, *et al.* A *Saccharomyces cerevisiae* genomic plasmid bank based on a centromere-containing shuttle vector. *Gene*, 1987, **60**: 237–243.
- [12] Guo Z, Sherman F. 3'-end-forming signals of yeast mRNA. *Mol Cell Biol*, 1995, **15**: 5983–5990.
- [13] Cigan AM, Donahue TF. Sequence and structural feature associated with translational initiator regions in yeast—a review. *Gene*, 1987, **59**: 1–18.
- [14] Kozak M. An analysis of vertebrate mRNA sequence: intimations of translation control. *J Cell Biol*, 1991, **115**: 887–903.
- [15] Mason AB, Buckley HR, Gorman JA. Molecular cloning and characterization of the *Candida albicans* enolase gene. *J Bacteriol*, 1993, **175**(9): 2632–2639.

征订启事

2010 年部分生物、农林类学术期刊联合征订表(2-2)

刊物名称	邮发代号	刊 期	年价(元)	网 址	E-mail
微生物学通报	2-817	月刊	576	http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn	tongbao@im.ac.cn
武汉植物学研究	38-103	双月刊	180	http://whzwxxyj.cn	editor@rose.whiob.ac.cn
畜牧兽医学报	82-453	月刊	240	www.xmsyxb.com	xmsyxb@263.net
遗传	2-810	月刊	600	www.chinagene.cn	yczz@genetics.ac.cn
遗传学报	2-819	月刊	600	www.jgenetgenomics.org	jgg@genetics.ac.cn
营养学报	6-22	双月刊	108	http://yyxx.chinajournal.net.cn	yyxx@chinajournal.net.cn
云南植物研究	64-11	双月刊	150	http://journal.kib.ac.cn	bianji@mail.kib.ac.cn
植物遗传资源学报	82-643	双月刊	120	www.zwyczy.cn	Zwyczyxb2003@sina.com Zwyczyxb2003@163.com
中国农业科学 (中文版)	2-138	半月刊	1188	www.ChinaAgriSci.com	zgnykx@mail.caas.net.cn
中国农业科学 (英文版)	2-851	月刊	432	www.ChinaAgriSci.com	zgnykx@mail.caas.net.cn
中国实验动物学报	2-748	双月刊	120	www.calas.org.cn	A67761337@126.com
中国生态农业学报	82-973	双月刊	210	www.ecoagri.ac.cn	editor@sjziam.ac.cn
中国生物工程杂志	82-673	月刊	960	www.biotech.ac.cn	biotech@mail.las.ac.cn
中国水产科学	18-250	双月刊	180	www.fishscichina.com	zgscckx@cafs.ac.cn
中国水稻科学	32-94	双月刊	90	www.ricesci.cn	cjrs@263.net
作物学报	82-336	月刊	600	www.chinacrops.org/zwxb	xbzw@chinajournal.net.cn

<http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>