

甘薯茎线虫乙酰胆碱酯酶基因 *Dd-ace-2* 全长 cDNA 的克隆和序列分析

丁 中^{1,2}, 彭德良¹, 黄文坤¹, 贺文婷¹, 高必达²

1 中国农业科学院植物保护研究所植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100094

2 湖南农业大学生物安全科学技术学院, 长沙 410128

摘 要: 利用 RT-PCR、RACE 技术克隆了甘薯茎线虫(*Ditylenchus destructor*)乙酰胆碱酯酶基因(*Dd-ace-2*) cDNA (GenBank 登录号 EF583058), 用 DNAMAN5.0、MEGA3.0 进行了序列分析。克隆的 *Dd-ace-2* 基因 cDNA 全长 2425 bp, 包含一个 2205 bp 的开放阅读框, 编码 734 个氨基酸。*Dd-ace-2* 基因推导的氨基酸序列与南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*)、秀丽小杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)和动物寄生线虫胎生网尾线虫(*Dictyocaulus viviparus*)*ace-2* 的氨基酸序列同源性分别达 48.0%、42.7%和 42.1%。在推导的 734 个氨基酸残基的前体蛋白中, 前面的 701 个氨基酸残基是成熟的乙酰胆碱酯酶序列, 其预测的分子量为 79240.38 D。在一级结构中, 形成催化活性中心的 3 个氨基酸残基(Ser291, Glu442 和 His574)、胆碱结合位点 Trp(177), 以及在亚基内形成二硫键的 6 个半胱氨酸完全保守; 在电鳐乙酰胆碱酯酶分子的催化功能域中存在 14 个保守的芳香族氨基酸残基, 其中 10 个在甘薯茎线虫乙酰胆碱酯酶中完全保守。与其它线虫和物种乙酰胆碱酯酶的聚类分析显示, 甘薯茎线虫的乙酰胆碱酯酶与其它线虫乙酰胆碱酯酶 ACE-2 同属一个支系。

关键词: 甘薯茎线虫, 乙酰胆碱酯酶, cDNA 克隆, *Dd-ace-2*

Molecular Cloning and Characterization of an Acetylcholinesterase Gene *Dd-ace-2* from Sweet Potato Stem Nematode *Ditylenchus destructor*

Zhong Ding^{1,2}, Deliang Peng¹, Wenkun Huang¹, Wenting He¹, and Bida Gao²

1 State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China

2 College of Bio-safety Science Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

Abstract: A cDNA, named *Dd-ace-2*, encoding an acetylcholinesterase (AChE, EC3.1.1.7), was isolated from sweet-potato-stem nematode, *Ditylenchus destructor*. The nucleotide and amino acid sequences among different nematode species were compared and analyzed with DNAMAN5.0、MEGA3.0 softwares. The results showed that the complete nucleotide sequence of *Dd-ace-2* gene of *Ditylenchus destructor* contains 2425 base pairs from which deduced 734 amino acids (GenBank accession No. EF583058). The homology rates of amino acid sequences of *Dd-ace-2* gene between *Ditylenchus destructor* and *Meloidogyne incognita*, *Caenorhabditis elegans*, *Dictyocaulus viviparus* were 48.0%, 42.7%, 42.1% respectively. The mature acetylcholinesterase sequences of *Ditylenchus destructor* may encode by the first 701 residues of deduced 734 amino acids. The conserved motifs involved in the catalytic

Received: May 21, 2007; **Accepted:** July 2, 2007

Supported by: the National key Technology R & D Program (No. 2006BAD08A08) and the State Key Laboratory Open Foundation (No. 2006PD3).

Corresponding author: Deliang Peng. Tel: +86-10-62815611; E-mail: dlpeng@caas.net.cn

国家科技支撑计划课题(No. 2006BAD08A08)和植物病虫害生物学国家重点实验室开放基金项目(No. 2006PD3)。

triad, the choline binding site and 10 aromatic residues lining the catalytic gorge were present in the *Dd-ace-2* deduced protein. Phylogenetic analysis based on AChEs of other nematodes and species showed that the deduced AChE formed the same cluster with ACE-2s.

Keywords: *Ditylenchus destructor*, acetylcholinesterase, *Dd-ace-2*

乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE, EC 3.1.1.7) 是维持神经系统正常功能的重要酶类,也是有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂的作用靶标,多年来一直是农药毒理学研究的重点之一。当前防治甘薯茎线虫(*Ditylenchus destructor* Thorne)的主要药剂为乙酰胆碱酯酶(AChE)抑制剂如涕灭威、灭线磷等,由于这些杀线剂毒性高对环境污染大,因此开展对植物寄生线虫乙酰胆碱酯酶的研究有助于了解线虫乙酰胆碱酯酶的特性和开发新的防治药剂、途径和方法。由于线虫存在多种基因编码乙酰胆碱酯酶,克隆乙酰胆碱酯酶基因尤为重要。如模式线虫秀丽小杆线虫(*Caenorhabditis elegans*) AChE 有四个基因 *ace-1*、*ace-2*、*ace-3* 和 *ace-4*, 分别编码不同类型的 AChE^[1-5]。目前植物寄生性线虫只有对南方根结线虫(*Meloidogyne incognita*)、爪哇根结线虫(*M. javanica*)的 ACE-1 以及 *M. incognita* 的 ACE-2 进行了克隆^[6,7],其它植物寄生线虫的 AChE 的基因克隆则未见报道。对甘薯茎线虫的乙酰胆碱酯酶基因进行研究,将为后续的研究工作奠定坚实的基础。为此,作者以甘薯茎线虫为目标生物,克隆了甘薯茎线虫 AChE 基因的其中一个完整的 cDNA,对所推导的 AChE 与其它线虫的 AChE 进行了氨基酸序列比较分析,并初步确定了该基因类型。

1 材料与方法

1.1 材料

从河北省昌黎县田间采集病薯,室内分离线虫后采用半裸镰刀菌(*Fusarium semitectum*)进行培养^[8,9]。待线虫在菌落上生长 25 d 左右后收集线虫,备用。

大肠杆菌感受态 DH5 α , 琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(天根生化科技有限公司), *EX Taq* 酶, 3 -Full RACE Core Set Ver.2.0 扩增试剂盒(TaKaRa 公司); pGEM-T easy 系统试剂盒(Promega); TRIzol 试剂, SuperScriptTM First-Strand Synthesis System, 5 RACE System for Rapid amplification of cDNA Ends, Version 2.0(Invitrogen)。

1.2 乙酰胆碱酯酶基因 cDNA 片段的克隆

采用 TRIzol 试剂提取总 RNA。

cDNA 第 1 链合成采用 Invitrogen SuperScriptTM First-Strand Synthesis System 试剂盒,具体操作见试剂盒说明书。

通过同源性比较,根据 AChE 的氨基酸保守序列 GAEMWN 设计、合成上游简并引物:

cDNA2-F: 5'-GGNGCNGARATGTGGAAYC-3'

根据其保守序列 DEGTYW 设计、合成下游简并引物

cDNA2-R: 5'-CCARTANGTNCCYTCRTC-3'

以 cDNA 第一链为模板进行 PCR 反应,PCR 程序: 94°C 5 min; 94°C 1 min, 54°C 45 s, 72°C 2 min, 35 个循环; 72°C 延长 10 min。扩增产物在 1% 的琼脂糖凝胶上电泳分离后将预期的 DNA 片段回收,连接于 pGEM-T easy 载体上,转化至 DH5 α , 菌液 PCR 检测后送北京优博基因科技有限公司测序。根据测序结果设计特异性引物。

1.3 3'端第一链 cDNA 的合成

采用 3 -Full RACE Core Set Ver.2.0 扩增试剂盒。3 RACE cDNA 合成的反应体系为 10 μ L, 含有 1 μ L 的 3 RACE Adaptor(5 μ mol/L)引物, 1 μ L 总 RNA (1 μ g/ μ L), 4.5 μ L 的 DEPC 处理水, 2 μ L 的 5 \times 缓冲液, 0.25 μ L 的 RNase Inhibitor(40 u/ μ L), 1 μ L 的 10 mmol/L dNTP 混合物和 0.25 μ L M-MLV (200 u/ μ L)反转录酶。将反应体系在 42°C 保温 60 min 以完成 cDNA 第一链的合成。

1.4 3 RACE

根据 cDNA 片段序列信息设计特异性引物:

3GSP1: 5'-CTACCAAACCCAAGGAAGTCAT-AC-3'

3GSP2: 5'-CTGCACACCGAATATCGTTAATG-3'

以 3'端第一链 cDNA 原液为模板,用 3GSP1 和 3 RACE Outer Primer(5'-TACCGTCGTTCCACTAG-TGATTT-3')为正反向引物,进行第一次 PCR 反应,PCR 程序: 94°C 5min; 94°C 30 s, 57°C 30 s, 72°C 4 min, 30 个循环; 72°C 延长 10 min。直接以第 1 次 PCR

产物为模板, 用 3GSP2 和 Inner Primer(5'-CGCGG-ATCCTCCACTAGTGATTTCCTATAGG-3') 为引物, 进行第 2 次 PCR 反应, 30 个循环, PCR 程序: 94°C 5 min; 94°C 30 s, 57°C 30 s, 72°C 90 s, 30 个循环; 72°C 延长 10 min。第 2 次扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳分离后, 回收目的片段, 再进行连接、转化、克隆、PCR 检测后测序。

1.5 5' RACE

由于甘薯茎线虫 mRNA 5' 端存在反式剪接引导序列(spliced leader, SL RNA)SL1(另见报道), 故可通过 SL1 作为上游引物来获得 cDNA 全长, 并根据片段序列信息设计特异性引物:

SL1: 5'-GGTTTAATTACCCAAGTTTGAG-3'

5GSP1: 5'-CTCAGAGACCGCATTTG-3'

5GSP2: 5'-CCACCAAACAGCCACACCATAAC-3'

以 cDNA 第 1 链原液为模板, 用 SL1 和 5GSP1 为正反向引物进行 PCR 反应, PCR 程序: 94°C 5 min; 94°C 30 s, 51°C 30 s, 72°C 2 min, 30 个循环; 72°C 延长 10 min。以第 1 次 PCR 产物为模板, 用 SL1 和 5GSP2 为引物, 进行第 2 次 PCR 反应, 30 个循环, PCR 程序: 94°C 5 min; 94°C 30 s, 51°C 30 s, 72°C 1 min, 30 个循环; 72°C 延长 7 min。第 2 次 PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳分离后, 回收预期目的片段, 再进行连接、转化、克隆、PCR 检测后测序。

1.6 乙酰胆碱酯酶基因 cDNA 序列分析

分别使用 DNASTar 和 DNAMAN 进行核苷酸序列的翻译和氨基酸序列的比对分析, 使用在线工具 http://www.expasy.ch/tools/pi_tool.html 进行蛋白质

分子量的预测, 使用 SignalP 3.0 Server 在线工具 <http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/> 预测蛋白质前体信号肽, 使用在线工具 http://mendel.imp.ac.at/sat/gpi/gpi_server.html 和 <http://gpi.unibe.ch/> 进行 GPI 锚定位点预测, 使用在线工具 <http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNGlyc/> 对蛋白质序列中可能存在的 N 糖基化位点进行预测。使用 MEGA 3.0 采用 UPGMA 法进行分子系统树的构建。

2 结果与分析

2.1 甘薯茎线虫乙酰胆碱酯酶基因 cDNA 的克隆及序列分析

使用简并引物 cDNA2-F 和 cDNA2-R 进行 RT-PCR 扩增得到与预期扩增片段相符的片段, 对其进行回收, 测序表明预期的扩增片段长 822 bp, 经 BLAST 查询, 证实此片段与模式线虫秀丽小杆线虫 AChE 基因 ACE-2 的部分序列高度同源。根据此片段设计基因特异引物 3GSP1、3GSP2 和 5GSP1、5GSP2, 用 RACE 技术结合反式剪接引导序列 SL1, 扩增到 AChE 基因的 3' 和 5' cDNA 末端(图 1: B、C), 将琼脂糖凝胶上的 DNA 带回收并克隆测序。

对测序所得到的 5' RACE 和 3' RACE cDNA 核苷酸序列进行拼接, 得到甘薯茎线虫 AChE 基因的全长 cDNA, 其长度为 2425 bp。在该序列的 5' 端存在 97 bp 的非翻译区(UTR), 中间为 2205 bp 的开放阅读框(ORF), 3' 端非翻译区(UTR)长度为 123 bp, 其中包括 12 bp 的 poly(A) 尾巴。该序列在 GenBank 中的登录号为: EF583058。

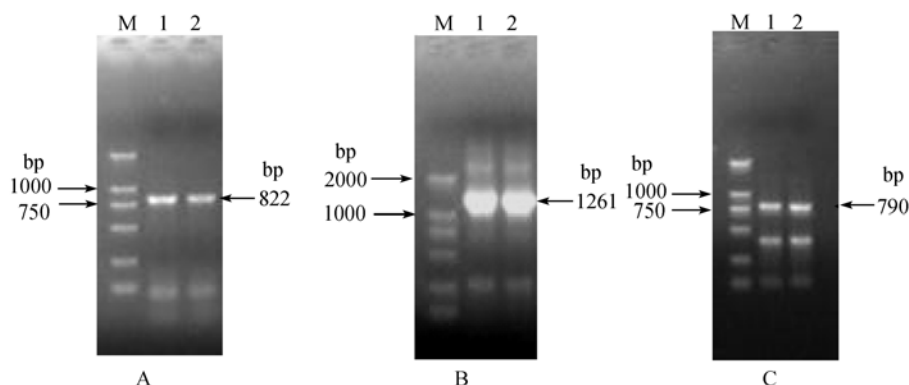


图 1 RT-PCR 扩增片段电泳图(A)、3' RACE 电泳图(B)、5' RACE 电泳图(C)

Fig. 1 Agarose gel (1.0 %) showing the products of the RT- PCR (A), 3'RACE (B) and 5'RACE (C)

M: DL 2000 DNA marker; Lane 1,2: product of PCR

2.2 甘薯茎线虫乙酰胆碱酯酶氨基酸序列分析

由核苷酸推导的甘薯茎线虫 AChE 含有 734 个氨基酸,应用 SignalP 3.0 Server 等在线工具预测蛋白质前体信号肽,结果显示该蛋白为非分泌蛋白,并在 C-33 的位置可能存在糖基磷脂酰肌醇(glycosylphosphatidylinositol, GPI)锚定位点。该酶的分子量(Mw)和等电点(pI)分别为 79240.38 D 和 8.61。根据在线工具预测,该氨基酸序列存在 2 个潜在的 N-糖基化位点,它们分别是位于第 33~36 位的 NQTK,第 459~462 位的 NHTV。

将甘薯茎线虫的 AChE 与其他线虫的 AChE 的氨基酸序列进行同源性比较。结果表明,甘薯茎线虫与与模式线虫秀丽小杆线虫 Ce-ACE-2 的同源性为 42.7%,而与 Ce-ACE-1、Ce-ACE-3 和 Ce-ACE-4 的同源性仅分别为 18.1%、26.0%和 22.3%;与南方根结线虫 Mi-ACE-2^[7]的同源性最高,达 48.0%,与动物寄生线虫胎生网尾线虫 Dv-ACE-2^[10]的同源性为 42.1%。从图 2 系统树显示的结果可见,甘薯茎线虫的 AChE 与秀丽小杆线虫、南方根结线虫和胎生网尾线虫 ACE-2 组成一个支系,表明它们的亲缘关系较近,因而将其编号为 Dd-ACE-2。

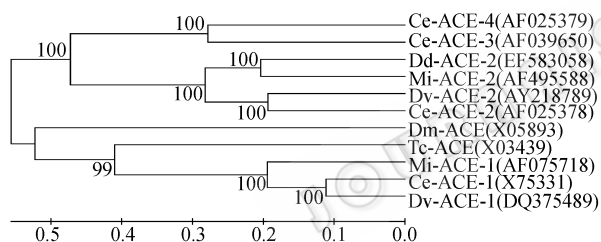


图 2 基于 UPGMA 构建的 11 种乙酰胆碱酯酶的系统发育树
括号内为 GenBank 登录号

Fig. 2 Phylogenetic trees of AChEs based on the AChE amino acid sequence using UPGMA method

Accession numbers are indicated in brackets

注: Dd-ACE-2:甘薯茎线虫 ACE-2; Ce-ACE-1: 秀丽小杆线虫 ACE-1; Ce-ACE-2: 秀丽小杆线虫 ACE-2; Ce-ACE-3: 秀丽小杆线虫 ACE-3; Ce-ACE-4: 秀丽小杆线虫 ACE-4; Mi-ACE-1: 南方根结线虫 ACE-1; Mi-ACE-2: 南方根结线虫 ACE-2; Dv-ACE-1: 胎生网尾线虫 ACE-1; Dv-ACE-2: 胎生网尾线虫 ACE-2; Tc-ACE: 电鳐 ACE; Dm-ACE: 黑腹果蝇 ACE。下同

Note: Dd-ACE-2: *D. destructor* ACE-2; Ce-ACE-1: *C. elegans* ACE-1; Ce-ACE-2: *C. elegans* ACE-2; Ce-ACE-3: *C. elegans* ACE-3; Ce-ACE-4: *C. elegans* ACE-4; Mi-ACE-1: *M. incognita* ACE-1; Mi-ACE-2: *M. incognita* ACE-2; Dv-ACE-1: *D. viviparus* ACE-1; Dv-ACE-2: *D. viviparus* ACE-2; Tc-ACE: *T. californica* ACE; Dm-ACE: *D. melanogaster* ACE.

The same as in the following figs.

电鳐(*Torpedo californica*, Tc)的 AChE 催化亚基晶体 X 射线衍射图谱显示, AChE 存在一个深而窄的谷,谷底部有一个活性位点,它是由催化三联体和所谓的阴离子亚位点组成^[11]。由 E(327)、H(440)和 S(200)构成的催化三联体负责底物乙酰胆碱的水解。同样在甘薯茎线虫 ACE-2 也存在该催化三联体: S(291)、E(442)和 H(574)以及胆碱结合位点 W(177),包涵 S(291)位点的保守序列 FGESAG。在电鳐 AChE 分子的催化功能域中存在 14 个保守的芳香族氨基酸残基,其中 10 个在甘薯茎线虫 AChE 中完全保守,它们是 W(177)、W(205)、Y(221)、W(324)、F(403)、Y(445)、W(446)、Y(449)、W(566)和 Y(576)。此外在甘薯茎线虫 AChE 氨基酸中存在的三对保守的半胱氨酸残基形成三对二硫键环。

3 讨论

本研究通过 RT-PCR 结合 RACE 技术克隆了甘薯茎线虫乙酰胆碱酯酶的全长 cDNA。通过核苷酸序列推导的氨基酸序列与胎生网尾线虫的 Ce-ACE-2、南方根结线虫的 Mi-ACE-2、胎生网尾线虫的 Dv-ACE-2 高度同源,而与秀丽小杆线虫的 Ce-ACE-2、Ce-ACE-3 和 Ce-ACE-4 同源性较低。电鳐乙酰胆碱酯酶一级结构中的绝大多数保守的氨基酸残基和活性位点在甘薯茎线虫的乙酰胆碱酯酶中可以找到,因此可以推断该序列为乙酰胆碱酯酶,且与秀丽小杆线虫、南方根结线虫和胎生网尾线虫 ACE-2 组成一个支系。

秀丽小杆线虫的 ACE-2 是一种结合有糖基磷脂酰肌醇(glycosylphosphatidylinositol, GPI)结构的两亲分子二聚体^[5]。其 C 末端是疏水的,与脊椎动物 AChE(H)结构非常相似,都有一个 GPI 锚定位点^[12]。虽然通过 SignalP 3.0 和 GPI-SOM 两个在线预测软件在 Dd-ACE-2 中未能预测到 GPI 位点,但能检测到该序列 C 末端是疏水的,根据其同源性可以推测 GPI 锚定位点在 Dd-ACE-2 中是很有可能存在的。秀丽小杆线虫、南方根结线虫和胎生网尾线虫的 ACE-2 在 C 末端均有一个自由的半胱氨酸残基,位于锚定位点的上游并参与链间二硫键的形成,在 Dd-ACE-2 的 C 末端则未发现半胱氨酸残基(见图 3)。这是否意味着该酶活性的改变有待进一步研究。

采用 GFP 报道基因显微注射法研究表明秀丽小

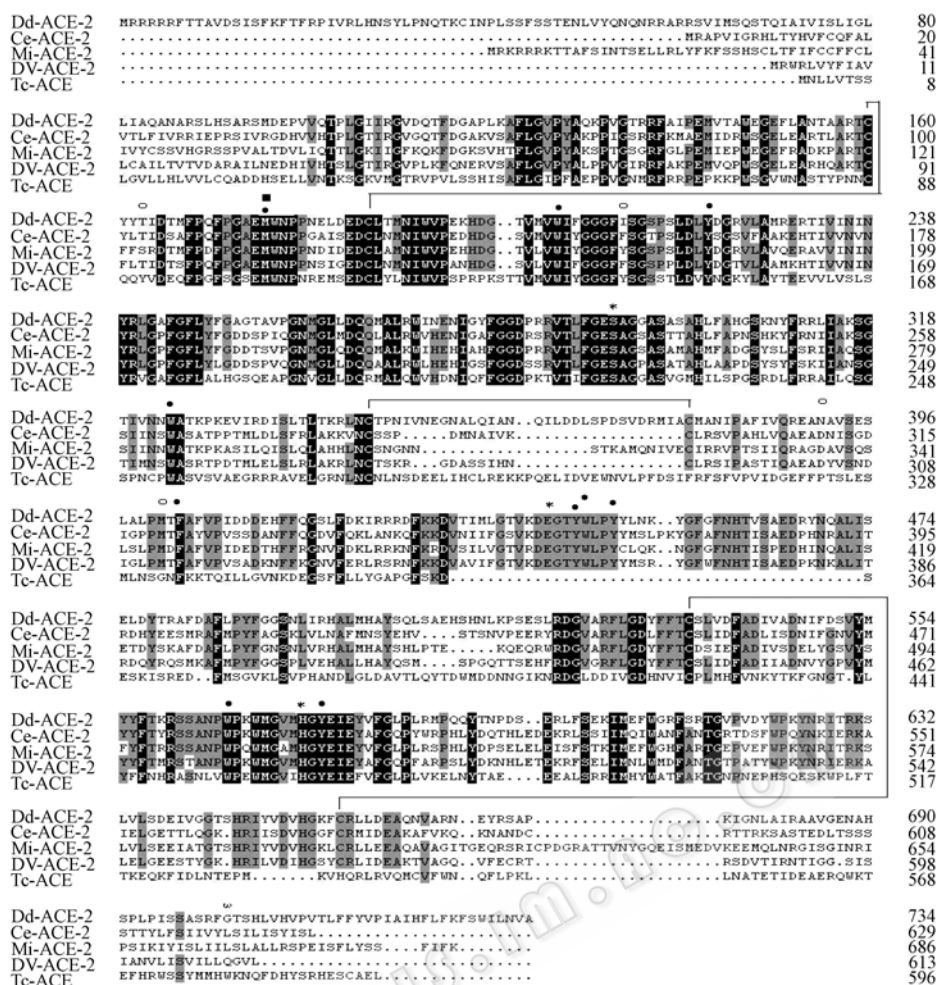


图3 甘薯茎线虫乙酰胆碱酯酶与其它3种线虫及电鳗的乙酰胆碱酯酶的氨基酸序列比较

Fig. 3 Alignment of Dd-ace-2 deduced protein with *C. elegans* ACE-2, *M. incognita* ACE-2, *D. viviparus*

ACE-2 and *T. californica* ACE. Conserved (●) and non-conserved (○) aromatic residues, conserved residues of the active site (*), the choline binding site (■) and potential GPI modification site (◇) are shown. The Dd-ACE-3 hydrophilic N-terminal signal are underlined. Cysteine residues involved in intrachain disulfide bonds are connected by lines. Identical amino acids are shaded

杆线虫的 *ace-2* 与 *ace-1* 具有不同的表达部位: *ace-2* 主要在头部的感觉神经细胞、pm5 细胞以及肛门神经节和真皮细胞下的运动神经元得到表达^[13]。而且 *ace-2* 是秀丽小杆线虫贡门表达 AChE 的唯一基因^[14]。通过 RT-PCR 技术研究发现, *ace-2* 在南方根结线虫卵孵化前的一龄幼虫及孵化后的生长阶段包括雌、雄虫均能表达^[15]。由于在南方根结线虫雌成虫中未能检测到 *ace-1*, 因此推测 *ace-2* 可能与线虫的取食有关。当甘薯茎线虫受到 AChE 抑制剂作用时, 很可能因为取食行为受到影响而导致死亡。

由于秀丽小杆线虫等许多寄生线虫均存在 SL 序列^[16-20], 它不仅提供了一个 5' 端锚定, 还可确保分离得到全长 cDNA。本研究即通过 SL1 序列结合特异性引物获得了甘薯茎线虫 ACE-2 的 cDNA 全长。因

此只要已知一段序列, 就可结合 olig(dT) 和 SL 作为引物, 获得覆盖目的基因的全长。但由于 SL 序列为保守序列, 用该方法可能会产生非特异性扩增。

致谢 半裸镰刀菌菌种由黑龙江省农业科学院植保所王芊博士惠赠, 并在线虫的采集过程中得到河北科技师范学院(昌黎)武保悦老师的大力帮助, 特此致谢!

REFERENCES

- [1] Johnson CD, Duckett JG, Culotti JG, Herman PM, Meneely PM, Russell RL. An acetylcholinesterase-deficient mutant of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 1981, **97**: 261-279.
- [2] Culotti JG, Ehrenstein GV, Culotti MR, Russell RL. A second class of acetylcholinesterase-deficient mutants of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 1981, **97**:

- 281–305.
- [3] Kolson DL, Russell RL. A novel class of acetylcholinesterase, revealed by mutations, in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Neurogenet*, 1985, **2**: 93–110.
- [4] Johnson CD, Rand JR, Herman RK, Stern BD, Russell RL. The acetylcholinesterase genes of *C. elegans*: identification of a third gene (*ace-3*) and mosaic mapping of a synthetic lethal phenotype. *Neurogenet*, 1988, **1**: 165–173.
- [5] Combes D, Fedon Y, Grauso M, Toutant JP, Arpagaus M. Four genes encode acetylcholinesterases in the nematodes *Caenorhabditis elegans* and *Caenorhabditis briggsae*. cDNA sequences, genomic structures, mutations and *in vivo* expression. *Journal Molecular Biology*, 2000, **300**: 727–742.
- [6] Piotte C, Arthaud L, Abad P, Rosso MN. Molecular cloning of an acetylcholinesterase gene from the plant parasitic nematodes, *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne javanica*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 1999, **99**: 247–256.
- [7] Laffaire JB, Jaubert S, Abad P, Rosso MN. Molecular cloning and life stage expression pattern of a new acetylcholinesterase gene from the plant parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. *Nematology*, 2003, **5**(2): 213–217.
- [8] Young HK, Seung HO. *In vitro* culture and factors affecting population changes of *Ditylenchus destructor* of ginseng. *Korean Journal Of Plant Pathology*, 1995, **11**(1): 39–46.
- [9] Xu JJ, Li SD, Y ZW. Culture of potato rot nematode. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2004, **13**(4): 77–80. 徐进军, 李世东, 杨之为. 马铃薯茎线虫的培养. *西北农业学报*, 2004, **13** (4): 77–80.
- [10] Matthews JB, Lazari O, Davidson AJ, Warren S, Selkirk ME. A tryptophan amphiphilic tetramerization domain-containing acetylcholinesterase from the bovine lungworm. *Dictyocaulus viviparus*, *Parasitology* 2006, **133**: 381–387.
- [11] Sussman JL, Harel M, Frolov F, Oefner C, Goldman, A, Toker L & Silman I. Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science*, 1991, **253**: 872–879.
- [12] Grauso M, Culetto E, Combes D, Fedon Y, Toutant JP, Arpagaus M. Existence of four acetylcholinesterase genes in the nematodes *Caenorhabditis elegans* and *Caenorhabditis briggsae*. *FEBS Lett*, 1998, **424**: 279–284.
- [13] Combes D, Fedon Y, Toutant JP, Arpagaus M. Multiple *ace* genes encoding acetylcholinesterases of *Caenorhabditis elegans* have distinct tissue expression. *European Journal of Neuroscience*, 2003, **18**: 497–512.
- [14] Johnson, CD & Russell. RL Multiple molecular forms of acetylcholinesterase in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Neurochemistry*, 1983, **41**: 30–46.
- [15] Combes D, Fedon Y, Toutant JP, Arpagaus M. Multiple *ace* genes encoding acetylcholinesterases of *Caenorhabditis elegans* have distinct tissue expression. *European Journal of Neuroscience*, 2003, **18**: 497–512.
- [16] Kraose M, Hirsh DA. Trans-spliced leader sequence on actin mRNA in *C. elegans*. *Cell*, 1987, **71**: 753–761.
- [17] Takacs AM, Denker JA, Perrine KG, *et al.* A 22-nucleotide spliced leader sequence in the human parasite nematode *Brugia malaya* identical to the trans-spliced leader exon in *C. elegans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1988, **85**: 7932–7936.
- [18] Nilsen TW. Trans-splicing in nematodes. Minireview Exp. *Parasitology*, 1989, **69**: 413–416.
- [19] Bektesh SL, Van Doren K, Hirsh D. Presence of the *Caenorhabditis elegans* spliced leader on different mRNAs and in different genera of nematode. *Genes & Development*, 1998, **2**: 1277–1283.
- [20] Zeng W, Alarcon CM, Donelson JE. Many transcribed regions of the *Onchocerca volvulus* genome contain the spliced leader sequence of *C. elegans*. *Molecular and Cellular Biology*, 1990, **10**: 27765–27773.

《生物工程学报》2008 年新网页、新系统正式开通

伴随着新年的钟声,《生物工程学报》以崭新的面貌迎来 2008 年。继我刊改为月刊之后,2008 年 1 月 1 日又将更新网页,开通新的稿件处理系统,新网址为 <http://journals.im.ac.cn/cjbcn>,欢迎广大作者、读者和审稿专家登陆浏览。

为保证新旧系统的平稳过渡,我们将保留原系统一段时间,在新址首页设置“旧版入口”,作者和审稿专家若需要查询或审阅 2007 年 12 月 29 日之前投来的稿件(即编号带有 gc2007-前缀的稿件),请从这里点击进入。相信新的系统将使稿件处理更加方便快捷,但因为使用初期有一个磨合的过程,可能会给您带来一些不便,对此我们深表歉意。

您在使用过程中有任何问题,或者有任何建议和意见,欢迎随时与编辑部联系。

电话: 010-64807509; E-mail: cjb@im.ac.cn。

《生物工程学报》编辑部