

谷子类胡萝卜素生物合成途径中番茄红素-环化酶基因的克隆

赵倩 赖凡 于静娟 朱登云 敖光明

(中国农业大学 农业生物技术国家重点实验室,北京 100094)

摘要 利用降落 PCR 的方法,从谷子基因组中获得 *lcy-b* 基因。全序列分析表明,其开放阅读框为 1 782 bp,编码的蛋白由 594 个氨基酸组成,分子质量为 67 724 u。将获得的谷子 *lcy-b* 基因序列与已发表的其他植物 *lcy-b* 基因序列比较,发现所得到的基因序列与单子叶植物黄水仙的同源性明显高于与双子叶植物的同源性。蛋白质序列比较发现中部和尾部的部分区段内氨基酸同源性较高,且都存在 FL YAMP 序列和 FAD/ NAD(P) 结合区等植物 LCY-B 的特征序列。Southern 杂交结果表明,*lcy-b* 在基因组中以单拷贝存在。

关键词 类胡萝卜素; 谷子; 番茄红素-环化酶; 降落 PCR; 克隆

中图分类号 Q 78

文章编号 1007-4333(2004)01-0001-06

文献标识码 A

Cloning of Lycopene -cyclase gene related to carotenoid biosynthetic pathway of millet (*Setaria italica*)

Zhao Qian, Lai Fan, Yu Jingjuan, Zhu Dengyun, Ao Guangming

(State Key Laboratory for Agrobiotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract Millet *lcy-b* gene was cloned by the Touch Down-PCR. Sequence analysis showed that the open-reading frame of the cDNA was 1 782 bp and encoded a putative protein with 594 amino acids. The molecular weight of the putative protein was 67 724 u. All of the proteins encoded by *lcy-b* gene in plants contained a FAD/ NAD (P) binding region. The homologue of the obtained gene with monocotyledon daffodil was higher than that of the dicotyledon. And the homologues of the proteins were higher in middle and tail parts. Southern blotting indicated that *lcy-b* gene was one copy of the millet genome.

Key words carotenoid; millet; lycopene -cyclase; TD-PCR; clone

植物类胡萝卜素可以保护叶绿素免受强光导致的光氧化破坏,同时又是光合天线和反应中心复合体不可缺少的结构成分^[1],有些类胡萝卜素还是 ABA 合成的前体^[2],是植物生存所必不可少的。

类胡萝卜素的生物合成是以异戊基焦磷酸 (IPP) 为前体,4 个 IPP 单元装配成的二十碳化合物牻牛儿基牻牛儿基焦磷酸 (GGPP)。在八氢番茄红素合成酶 (PSY) 催化下,2 分子的 GGPP 形成四十碳的八氢番茄红素 (phytoene)。八氢番茄红素经过四步脱氢反应,形成番茄红素 (lycopene)。在植物和蓝细菌中四步脱氢反应是由 2 种结构与功能相似的酶,八氢番茄红素脱氢酶 (PDS) 和 -胡萝卜素脱氢酶 (ZDS) 共同完成的,而在其他细菌与真菌中只由

一种脱氢酶 (Crt I) 完成。番茄红素在番茄红素环化酶 (LCY) 的作用下发生环化,最终形成类胡萝卜素^[3]。

所有含 -环的类胡萝卜素都能转换成维生素 A 或者视黄醇,其在淬灭自由基、增强人体免疫力、预防心血管疾病和防癌、抗癌方面的作用也越来越引起人们的重视^[4,5]。而类胡萝卜素生物合成途径及其主要酶和基因的阐明,为通过基因工程手段调控植物类胡萝卜素合成成为可能。

Fray 等将细菌 *Erwinia* 的八氢番茄红素合成酶基因在果实特异启动子的控制下,在番茄果实中表达,其类胡萝卜素的含量增长了 2 倍^[6]。同样在种子特异启动子控制下,在油菜种子中表达 *crtB* 基

收稿日期: 2003-10-29

作者简介: 赵倩,博士,副教授;敖光明,教授,博士生导师,通讯作者,主要从事植物基因工程研究。E-mail:aogm@cau.edu.cn

因,使得转基因油菜的胚呈橙色,种子中类胡萝卜素的含量(主要为 α -和 β -胡萝卜素)提高了50倍,达到 $1.6\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ [7],由此种子榨成的‘金色菜油’可提供大量的 β -类胡萝卜素。Ye等[8]将黄水仙的 psy 和 $lcy-b$ 基因,细菌 $Erwinia\ uredovora$ 的 $crtI$ 基因,在胚乳特异谷蛋白启动子和35S组成型启动子的控制下,利用农杆菌介导的转化方法导入水稻,获得了胚乳呈黄色的“金大米”, F_0 代每g胚乳中含有 $1.6\ \mu\text{g}$ 类胡萝卜素,能够满足人体日常所需维生素A的量。

本实验通过cDNA文库筛选结合降落PCR方法,获得了谷子类胡萝卜素生物合成途径中番茄红素 β -环化酶基因,为用基因工程方法提高植物中类胡萝卜素含量提供了新的基因资源。

1 材料和方法

1) 材料。谷子(*Setaria italica*)3661,由中国农科院品种资源研究所提供。

2) 酶和试剂。限制性内切酶购自GIBCO公司,其他试剂为进口或国产分析纯。

3) 质粒载体。质粒载体pMD18-T购自Takara公司;含有编码黄水仙 $lcy-b$ 基因[8]的质粒pCYS-GEM4由德国Freiburg University, Peter Beyer教授惠赠;含有编码番茄 $lcy-b$ 基因(GenBank: X86452)的质粒pCYST-g由本实验室构建。

谷子未成熟种子cDNA文库,容量 $2\times 10^7\ \text{pfu}\cdot\text{mL}^{-1}$,本实验室构建[9]。

4) cDNA文库的筛选。分别以番茄和黄水仙 $lcy-b$ 基因为探针筛选谷子cDNA文库,经过3轮筛选后,利用helper phage将得到的阳性克隆环化成质粒。进行序列分析。

5) 利用降落PCR(TD-PCR)手段获得谷子 $lcy-b$ 基因的全长。根据文库筛选得到的谷子 $lcy-b$ 基因的部分序列,设计3引物P2:5'-CGGGTAG-TACAATGGTAGG3';同时根据 $lcy-b$ 基因在不同植物中5端的相似性,参照番茄 $lcy-b$ 基因的5端序列,设计5引物TP1:5'-TGTTGG(C)AAAAA(T)GATGGATAC-3',以谷子基因组DNA为模板,采用退火温度随循环数增加而不断降低的降落PCR方法,获得已知序列5端的未知序列。退火温度设计为从 T_m+5 降落至 T_m-10 ,每个温度

2个循环,最后在 T_m-10 上增加5~10个循环。将扩增产物连接到T载体pMD18-T上,进行序列分析。

6) Southern blot分析。从谷子叶片中提取基因组DNA。使用限制性内切酶Hind III, EcoRI, BamHI, PstI, KpnI完全酶解,经1.0%琼脂糖凝胶电泳后转移至尼龙膜上。参照文献[10]进行杂交,并按 $2\times\text{SSC}, 0.5\%\text{SDS}, 30\text{ min}$; $1\times\text{SSC}, 0.5\%\text{SDS}, 30\text{ min}$; $0.5\times\text{SSC}, 0.5\%\text{SDS}, 30\text{ min}$ 的条件洗膜,X光片曝光3d。

7) 分子进化分析。使用PAUP软件对多种植物的 $lcy-b$ 基因序列进行系统分析,序列来自GenBank数据库。

2 结果

2.1 谷子 $lcy-b$ cDNA片段的获得

酶切质粒pCYST-g和pCYS-GEM4,电泳回收番茄 $lcy-b$ 基因和黄水仙 $lcy-b$ 基因片段,用 ^{32}P 标记,作为探针。经过3轮筛选,从谷子未成熟种子cDNA表达文库共得到15个克隆与2种 $lcy-b$ 基因杂交时都有较强信号。利用helper phage将这些克隆环化后,提取质粒,取插入片段较长的1号、7号和12号质粒测序,结果表明7号质粒含有谷子 $lcy-b$ 基因的部分序列,命名为pCYS-7。

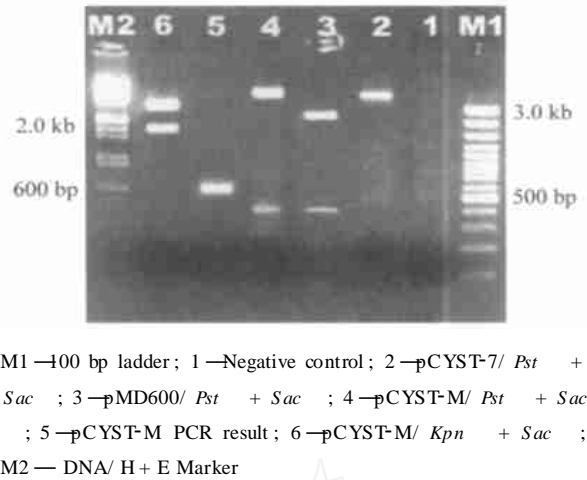
质粒pCYS-7上插入片段包含一个长1509bp的开放阅读框架,编码502个氨基酸。该片段具有完整的3端区段,但是缺乏基因的5端部分,获得的是缺乏5端的谷子 $lcy-b$ 基因序列。该片段与作为探针的番茄 $lcy-b$ 基因和黄水仙 $lcy-b$ 基因分别有67%和73%的同源性,在氨基酸水平上分别有70%和78%的同源性。

2.2 谷子 $lcy-b$ 基因全长的获得

根据文库筛选得到的谷子 $lcy-b$ 基因的部分序列,设计3引物P2;同时根据 $lcy-b$ 基因在不同植物中5端的相似性,利用番茄的5引物TP1,以谷子基因组DNA为模板,用降落PCR的方法,得到了约400和600bp的2个大小不同的片段。将这2种PCR产物分别与T载体pMD18-T连接,得到2个重组质粒,命名为pMD400和pMD600。对其测序结果表明,pMD600中插入片段全长为533nt,(包括39nt的人工合成引物),其3端235nt与谷子

lcy-b cDNA 片段的 5 端序列完全相同。因此认为 533 nt 片段为谷子 lcy-b 基因的 5 端序列。

由于获得的谷子 lcy-b 基因 2 个片段的重复区域内部存在 Pst 位点,质粒 pMD600 上带有 Sac 位点。因此采用 Pst 和 Sac 双酶切质粒 pMD600,回收 400 bp 左右的小片段,以获得谷子 lcy-b 基因 5 部分;同时利用同样的酶处理含有谷子 lcy-b 基因 1.5 kb 片段的质粒 pCYS-7,完全酶切后回收 4 400 bp 的大片段,连接后获得大小为 4.8 kb 左右,包含谷子 lcy-b 基因全长的质粒 pCYS-T-M。酶切和 PCR 结果表明构建的重组质粒是正确的(图 1)。将所获得的谷子 lcy-b 基因的序列(图 2)与已报道的 lcy-b 基因序列比较,结果表明,本研究已获得全长的 lcy-b 基因(图 3)。



M1—400 bp ladder; 1—Negative control; 2—pCYS-T-M/ Pst + Sac ; 3—pMD600/ Pst + Sac ; 4—pCYS-T-M/ Pst + Sac ; 5—pCYS-T-M PCR result; 6—pCYS-T-M/ Kpn + Sac ; M2—DNA/ H + E Marker

图 1 质粒 pCYS-T-M 的鉴定

Fig. 1 Characterization of plasmid pCYS-T-M

```

1      TGTTGCAAAATGATGGATACTCTATTGAACGAAAACATGCTTGGATTCTCCACCCAGTTCATGAATGGCCCTTTCAACAGAACAA
1      M D T L L N A K H A W I P P P S S M N W P P Q Q N N
91     GAATTTGTATTTCATACCCAAAATTCCCAAGTTGGTTACCCATTAATGTACTTATTATTGAAGCAATAAGATTGAGCATGAGGAGGGGT
15     E F V F I P K I P K L W L P I N V L I E A I R F S M R R G
181    GITCATGAGTTGATTTGGATTGATTTCGTTAATCAAATAAATCAGTTAATGGACAATTCATACTAATCATAATACATGTTAAACGA
51     V H E L I W I D Y S L I K L N Q F N G Q F I L I I I H V K R
271    TTITAGTGTATCTATTGTATGGTTGCTCACCAGAGACTCCGAGCACCAATGGTAAACCCTCCAGTGGCCGTCCTCCATTTGGCTC
87     F S C Y L F V W L L T K R L A A P M V K P L P V P S V H W L
361    GACGCTAGTACAGCTACACCAGAAGACTGGTCCAACCTGTGTCTCGCAACTGGTTCCAGCCTAACAGGAGGATTGGAAATCTTCGG
105    D A S T R Y T R R H W V Q P C V L Q T G S R Q R R I G N L P
451    GCAAATACATTCCACTTGGAGCAAGTCCAGATACAAACACGAGCAGTGGAAATTAGACTACCAATTGACTACCCGTCAAAGGGG
141    A N T I P L V D K V P D T N N E Q L E L D L P L Y Y P S K G
541    CTCTTCATGGAGCATCAGTTGTCGGTGGTGGACCGTGGCTGGCTGTAGCACAAAGTCTCCGACGAGGCTTTGGTTGGTTCCATT
177    L F M E R S V V G G G P L A G C S T L T S L R R R L L V G S I
631    GAACCGATTCCCAACAGTTCGGCTAATAATTATGGTGTGGGATGATGACTTTGAAGAGATGGACCTATATGATTGTCTTACGCT
195    E P I P K Q F W P N N Y G V W D D D F E E M D L Y D C L D A
721    ACATGGTCTGGCCAGTTGTTTATGCTGATGATGGTAGTACGAAGCATCTCCAGAGCCGTATGGAGCGGTTAAGCGAAACAACTCAAG
231    T W S G A V V Y A D D G S T K H L Q R P Y G R V K R N N L K
811    TCCAAGGTGATGCAAAAGTGTCTATCGAATGGTGTACATTCACCAAGCCAGAGTTCACCAAGGTAATCCATGAGGAGCGGAACTACTA
267    S K V M Q K C L S N G V T F H Q A R V L K V I H E E P K S L
901    TTGATTTGCACCGATGGGCTCACTATCGACCGGACAGTGGCTCTTGATGCCACTGGCTTCTTAGGGGTCTTGTCAGATGGATAAGCCG
285    L I C T H G L T I D A T V A L D A T G F S R R L V Q M D K P
991    TACAACCGGGGTATCAAGTAGCTTATGGAATTTGGCTGAAGTCAAGAACACCCCTTTGATGTCGATAAGATGGTGTTCATGGATTGG
321    Y N P G Y Q V A Y G I L A E V E E H P F D V D K M V F M D W
1081   AGAGATTTCCATCTGAATGGATATGGACTTGAAGAGAGGAAGGACAAAATGCCAACTTTTCTTATGCCATGCCCTTTTCATCAAA
357    R D S H L N G Y V D L K E R K D K M P T P L Y A M P P F S S N
1171   AGGATATTTCTTACGAGACGTCGTCGGTGTCTCGTCCGTGGATTGGAAGATATTCAGAAAGGATGGTGGCTCGATTGAAACAT
375    R I F L D E T S V A R P G L Q L E D I Q E R M V A R L K H
1261   TTGGGTATAAAAGTAAAGAGCATGAAGAAGATGAGCCGTGTCTATTCCAAATGGTGGGCCGCTTCCCGTATGCGCTCAAAAGAGTGGT
411    L G I K V K S I E E D E P C V I P M G G P L P V M P Q R V V
1351   GGAATCGGAGGGACAGCCGGTATGGTTCACCCATCTACTGTTACATGGTAGCAAGGACTCTAGCAGCTGCTCCAGAAGTTGCGAATTTCT
447    G I G G T A G M V H P S T G Y M V A R T L A A A P E V A N S
1441   ATGGTTACGTACTGGTTCGAGAGCAGTCTTCGGTAAATGAGTATCTGCGGAAGTTTGAAGATGTCGTCGGCAGATAGAGAGGAGA
465    M V Q Y L L G S E S S L S G N E L S A E V W K D V W P I E R R
1532   AGGCAACCGAGTTCTTCTGTTTGGTATGGATATCTGCTTAAGCTTGATTTACAAGCAACAAGAAGTTTTTTGTGATCATTTTTGAT
501    R Q R E F F C F G M D I L L K L D L Q A T R R F F D A F F D
1621   CCAGAACCACGGTATTTGGCATGGGTTCTGTCTGTCAGGATTGTTCTGCCAGAGCTATGCTTTTTGGCCCTTCTCTGTTCTCTCATGCT
537    P E P R Y W H G F L S S G L F L P E L L L F G L S L F S H A
1711   TCAAATCTGATGTTGAGATTATGGCCAAGGGTACTGTTCCCTTGGTTAATAAGATTAATCACTACTTCATGATAAGGATTGATTG
555    S N T C M F E I M A K G T V P L V N K I N H L L H D K D *
1801   AAGGTTACCAGTTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
  
```

* 终止密码子; 划线部分表示由降落 PCR 获得的 5 cDNA 片段; 斜体表示引物

图 2 谷子 lcy-b cDNA 全序列

Fig. 2 Full length of nucleotide and deduced amino acid sequence of lcy-b cDNA from millet

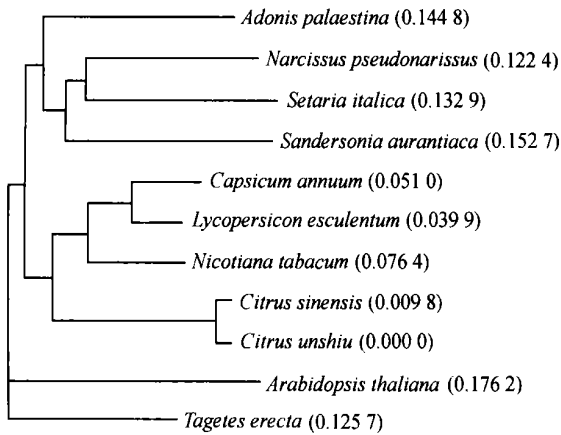


图 3 几种植物中 lcy-b 基因全长的相似性比较结果

Fig. 3 Sequences alignment of lcy-b gene in different plants *Adonis palaestina* (AF321534); *Narcissus pseudonarrissus* (X98796); *Setaria italica* (AY337024); *Sandersonia aurantiaca* (AF489520); *Capsicum annuum* (X86221); *Lycopersicon esculentum* (X86452); *Nicotiana tabacum* (X81787); *Citrus sinensis* (AF240787); *Citrus unshiu* (AY1666796); *Arabidopsis thaliana* (At3g10230); *Tagetes erecta* (AY099484)

2.3 谷子 lcy-b 基因的分析

根据所获得质粒 pCYST-M 的测序结果,所得到的谷子 lcy-b 基因序列的开放阅读框架长 1 782 bp,推测该基因编码的蛋白由 594 个氨基酸组成,分子质量为 67 724 u。

将获得的谷子 lcy-b 基因序列与 Genbank 中发表的黄水仙 (X98796)、番茄 (X86452)、柑橘 (AF240787)、烟草 (X81787)、辣椒 (X86221)、拟南芥 (At3g10230) 等植物的 lcy-b 基因序列比较,发现所得到的基因序列与单子叶植物黄水仙的序列同源性明显高于与其他双子叶植物的相似性(图 3)。蛋白序列比较显示,在所比较植物 lcy-b 基因的编码的蛋白序列中,所有的序列在中、后部氨基酸的相似性很强,所获得的谷子 LCY-B 序列中包含一些植物 LCY-B 的特征序列,都含有一段 FL YAMP 序列,都存在 FAD/ NAD(P) 结合区等^[11](图 4)。而在 LCY-B 的 N 端,几乎所有的蛋白序列都是不同的。

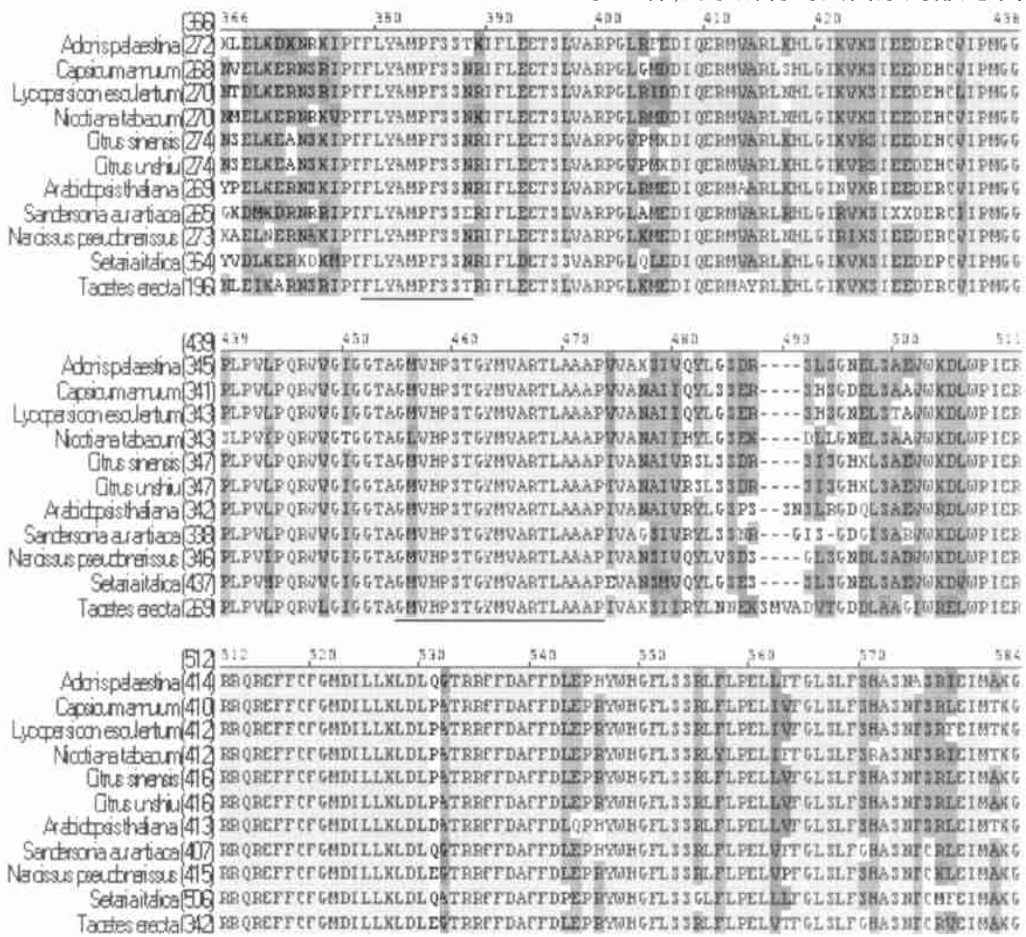
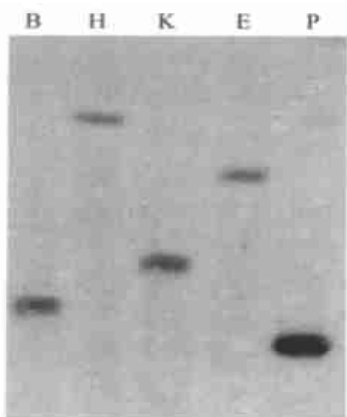


图 4 不同植物中 lcy-b 部分蛋白质序列相似性比较

Fig. 4 Partial protein sequences alignment of lcy-b gene in different plants underlines indicate FL YAMP sequence and FAD/ NAD(P) binding region

2.4 谷子 *lcy-b* 基因的 Southern blot 分析

用 5 种限制性内切酶 *Hind* III, *Eco* RI, *Bam* HI, *Pst* I 和 *Kpn* I 分别对谷子基因组进行彻底酶解,用 32 P 标记的 *lcy-b* cDNA 片段做探针杂交。结果表明,不同限制性内切酶酶解产物均只有一条杂交信号带(图 5),由此推断该基因可能是以单拷贝的形式存在于谷子基因组中。



B—*Bam*HI ; H—*Hind* III ; K—*Kpn* I ; E—*Eco*RI ; P—*Pst* I

图 5 谷子 *lcy-b* 基因的 Southern 杂交分析

Fig. 5 Southern blot analysis of millet genomic DNA with the *lcy-b* probe

Genomic DNA from millet leaves was digested with the enzyme

3 讨 论

筛选 cDNA 文库遇到的问题是,当分离的 cDNA 序列较长时,常常得不到全长的 cDNA。获得与已知序列相邻的未知序列,常用 RACE 方法,但 RACE 的前提是作为模板的反转录产物必须含有全长的 cDNA。另外一种常用的方法是基因组反向 PCR,即将单酶切的 DNA 自身环化,再用特异引物扩增已知序列两端的未知序列^[11]。但反向 PCR 依赖于待扩增序列的附近有合适的酶切位点,而且酶切片段自身环化的效率也较低。本实验根据 *lcy-b* 基因在不同植物中 5 端有一定的相似性,利用番茄的 5 端序列合成 5 简并引物 TP1,同时根据文库筛选得到的谷子 *lcy-b* 基因的部分序列,设计 3 引物 P2,以谷子基因组 DNA 为模板,在普通 PCR 的基础上,采用降落 PCR 技术,获得了已知 cDNA 序列 5 端的未知序列,并通过拼接得到了谷子 *lcy-b* cDNA 全长。在降落 PCR 技术中,温度不断降低的目的是通过控制模板与引物的特异性结合来控制反应产物的特异性,提高获得低峰度基因的几率。所以降落 PCR 技术特别适合于利用简并引物或者通用

引物等特异性不太高的引物摸索 PCR 反应的条件。在应用降落 PCR 技术时必须注意循环数、退火时间与整个反应时间的配合,尽量提高聚合酶在反应体系中的活性。

通过对谷子 cDNA 文库的筛选和降落 PCR 的方法,第一次获得了全长的谷子 *lcy-b* 基因序列。该序列包含有正确的起始与终止密码子,其编码的蛋白在中、后部与其他植物 LCY-B 的氨基酸的同源性很高,且包含植物 LCY-B 的共同特征 FL YAMP 序列和 FAD/ NAD (P) 结合区^[12],推测为番茄红素-环化酶的功能区。而基因 5 端的同源性较低,估计是不同植物进化的结果。序列比较发现,*lcy-b* 基因的核苷酸序列与单子叶植物黄水仙的序列同源性明显高于与其他双子叶植物的同源性,这与进化上的观点^[12]相符合。

植物中番茄红素环化酶基因是一个大的家族,在不同条件下不同的成员发挥不同的功能,不同的成员在核苷酸水平与蛋白质水平有一定的同源^[13]性。要确定一个新的番茄红素环化酶基因的作用,还需要在 *E. coli*^[14]和高等植物^[15,16]中进行功能分析和验证。

参 考 文 献

- [1] Demmig-Adams B, Gilmore A M, Adams W W . Carotenoids 3: In vivo functions of carotenoids in higher plants[J]. FASEB Journal, 1996, 10:403 ~ 412
- [2] Rock C D, Zeevaert J A D. The ABA mutant of *Arabidopsis thaliana* is impaired in epoxy-carotenoid biosynthesis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88:7496 ~ 7499
- [3] Armstrong GA, Hearst J E. Carotenoids 2: genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis[J]. FASEB J, 1996, 10: 228 ~ 237
- [4] Gann P H, Ma J, Giovannucci E, et al. Lower prostate cancer risk in men with elevated plasma lycopene levels: results of a prospective analysis[J]. Cancer Res, 1999, 59:1225 ~ 1230
- [5] Giovannucci E. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature [J]. J Natl Cancer Inst, 1999, 91: 317 ~ 331
- [6] Fray R G, Wallace A, Fraser P D, et al. Constitutive expression of a fruit phytoene synthase gene in transgenic tomatoes causes dwarfism by redirecting metabolites from the gibberellin pathway[J]. Plant J, 1995, 8: 693 ~ 701
- [7] Shewmaker C K, Sheehy J A, Daley M, et al. Seed spe-

- cific overexpression of phytoene synthase. increase in aryl-terpenoids and other metabolic effects[J]. *Plant J*, 1999, 20: 401 ~ 412
- [8] Ye X, AlBabili S, Kloti A, et al. Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm [J]. *Science*, 2000, 287: 303 ~ 305
- [9] 冯晓燕,于静娟,赵倩,等. 谷子脂转移蛋白 cDNA 的克隆及特性研究[J]. *农业生物技术学报*, 2003, 11(1): 11 ~ 15
- [10] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* [M]. NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1989
- [11] Ochman H, Cerber A S, Hartl D L. Genetic application of an inverse polymerase chain reaction [J]. *Genetic*, 1988, 120: 621 ~ 623
- [12] Cunningham F X Jr, Barry Pogson, Zairen Sun, et al. Functional analysis of the ϵ - and ζ -lycopene cyclase enzymes of arabidopsis reveals a mechanism for control of cyclic carotenoid formation [J]. *Plant Cell*, 1996, 8: 1613 ~ 1626
- [13] Ronen G, Cohen M, Zamir D, et al. Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato fruit development. expression of the ripening and is elevated in the mutant delta[J]. *Plant Journal*, 1999, 17: 341 ~ 351
- [14] Eleanore T, Wurtzel, Gregorio Valdez, Paul D. Matthews: Variation in expression of carotenoid genes in transformed *E. coli* strains [J]. *Bioresearch Journal*, 1997, 1: 1 ~ 11
- [15] Huguency P, Badillo A, Chen H C, et al. Metabolism of cyclic carotenoids. a model for the alteration of this biosynthetic pathway in *Capsicum annuum* chromoplasts [J]. *Plant Journal*, 1995, 8(3): 417 ~ 424
- [16] Cunningham F X Jr, Gantt E. One ring or two? Determination of ring number in carotenoids by lycopene ζ -cyclases[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 2905 ~ 2910

科研简讯

我校生物安全防护三级实验室建成

我校生物安全防护三级实验室(Biosafety Containment for Laboratory, 原称“P3实验室”)于2002年进行筹备,经过多方努力现已完成建设,将于2004年2月进入试运营阶段。本实验室严格按照农业部、卫生部和科技部的最高标准设计和建设,拥有先进的仪器设备、严格的质量安全管理体系和良好的人才环境,对我校开展动物疫病和病原方面的研究,特别是高致病性疫病的研究提供了重要的基地保证。

生物安全防护实验室要求实验室的结构、设施、安全操作规程及安全设备能够确保工作人员在处理含有致病微生物及其毒素的材料时不受实验对象侵染且周围环境不受污染。根据微生物及其毒素的危害程度不同,又将实验室分为四级:一级为最低,四级为最高。目前,P3实验室是我国大陆最高安全级别的实验室。

P3实验室最大的特点是拥有一个负压实验室——使得外界物质可以进入,内部物质却无法外泄。P3实验室的建造设计非常严格,例如洗手水必须统一收集消毒,空气也必须经过过滤消毒之后才能向外界排放,其目的是保证工作人员、周边环境和检测对象三方面的安全。

(赵德明供稿)