

盐生盐杆菌抗盐相关基因的随机克隆

刘广发, 谭 静

(厦门大学 生物学系, 福建 厦门 361005)

土壤盐渍化是限制农业生产的一个重要因素; 据统计全世界约有盐碱地约3.8亿 hm^2 , 我国1亿 hm^2 耕地中约有670万 hm^2 是盐碱地, 另外还有3333万 hm^2 盐碱荒滩。在世界人口剧增的今天, 如何开发利用盐碱地受到各国政府和科学家的高度重视, 其中, 加强对植物抗盐生理、生化研究, 提高植物抗盐性, 培育抗盐作物, 已成为开发利用盐渍土壤的重要课题。我们用随机克隆的方法获得了盐生盐杆菌抗盐相关的DNA片段, 为今后研究植物的抗盐机理, 培育能稳定遗传的抗盐作物新品种奠定了良好的基础。

1 材料与方 法

从饱和盐水中分离得到极端嗜盐的盐生盐杆菌Y。提取该菌总DNA, 再经BamHI不完全酶切, 获得随机DNA片段。同时提取质粒puc19, 经BamHI完全酶切后获得线性质粒puc19, 该质

粒经磷酸化后与盐生盐杆菌的DNA片段连接, 获得重组质粒。以重组质粒转化感受态细胞E.coli JM101; 然后在含高盐(NaCl浓度 $>0.9\text{ mol/L}$)平板和Amp-X-gal-IPTG平板上分别筛选转化子, 提取转化子中的质粒。经BamHI酶切, 电泳后初步判别插入DNA片段的分子量。

2 结果与讨论

从数百个转化菌落中获得了3个具有重组质粒的转化子。分别命名为ST₁, ST₂和ST₃。它们中的盐生盐杆菌Y DNA的插入片段分别为1.0, 2.5和3.5 Kb。这3个转化子的最高耐盐性分别从0.9 mol/L NaCl提高到转化后的1.2, 1.5和1.4 mol/L NaCl。上述结果初步表明, 已克隆的3个DNA片段中可能含有与抗盐相关的基因, 进一步的研究正在进行中。

霍乱毒素突变体和福氏 2a asd 基因缺失突变体的构建

廖 翔, 王恒梁, 冯尔玲, 苏国富

(军事医学科学院生物工程研究所, 北京 100071)

痢疾疫苗的研究是全世界都在关注的课题之一, 目前痢疾疫苗研究的主要方向是构建减毒的活菌苗; 但作为活菌苗, 其安全性与有效性之间的矛盾很难协调, 因此至今还没有很好的痢疾疫苗问世。至今普遍认为痢疾菌苗应该具有一定的侵袭力才行, 本研究室曾用野生型福氏 2a 2457T 作出发菌株, 构建了aroA 缺失突变体(RS426);

该突变体在豚鼠眼角膜试验中呈阴性, 但仍具有侵袭Hela细胞的能力。本文在此基础上, 构建其染色体asd基因全缺失的突变体, 为用载体/宿主平衡致死系统构建具有侵袭力的多价痢疾菌苗做好了准备。首先, 检出有毒的野生型霍乱弧菌, 从中扩增得到霍乱毒素(CT)基因; 然后用体外定点诱变技术将其63位丝氨酸改为赖氨酸, 获得