

## 巴西橡胶树 SNARE 蛋白全长 cDNA 克隆及其序列特征分析

邓柳红<sup>1</sup> 罗明武<sup>2</sup> 张春发<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup>中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 海南海口 571101; <sup>2</sup>华南热带农业大学, 海南儋州 571737)

**摘要:** 从巴西橡胶树 (*Hevea brasiliensis*) 差减 cDNA 文库中筛选到一个与 SNARE 蛋白同源性较高的基因片段, 根据其序列信息设计特异引物, 采用 cDNA 末端快速扩增技术 RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends) 进行差异片段的 5' 和 3' 端的扩增, 获得了长度为 1 070 bp 的全长 cDNA 克隆 R295。序列分析表明该基因包含 600 bp 的开放阅读框, 5'-UTR 为 93 bp, 3'-UTR 为 377 bp, 编码 199 个氨基酸。该基因编码的蛋白具有一个 SNARE coiled-coil 保守区、一个典型的 VAMP 基元及一个羧基端的 CAAX 基元。同源分析表明该蛋白属于一类特殊的 longins 蛋白。RT-PCR 检测表明它在胶乳中特异表达, 在叶中没有表达。

**关键词:** 巴西橡胶树; 胶乳; SNAREs 蛋白; Ykt6

## Cloning a Novel Gene Encoding Long Vesicle Associated Membrane Protein from *Hevea brasiliensis*

DENG Liu-Hong<sup>1</sup>, LUO Ming-Wu<sup>2</sup>, and ZHANG Chun-Fa<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup> State Key Laboratory of Tropical Crop Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, Hainan; <sup>2</sup> South China University of Tropical Agriculture, Danzhou 571737, Hainan, China)

**Abstract:** The plant endomembrane system or secretory pathway is critical for biosynthetic, response to stress, and other various physiological functions. Although it is clear that some mechanisms of protein trafficking are conserved between all eukaryotes, plants appear to possess a unique and highly complex vacuolar-targeting pathway. The molecular mechanisms responsible for targeting within these complex pathways have only recently been explored. The specificity of vesicle docking and fusion is mediated by proteins called SNAREs (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor (NSF) attachment protein receptor). Characterizing such factor would help to understand the endomembrane system or secretory pathway. Recently, we have obtained several cDNA clone related to secretory pathway by screening of a subtracted cDNA library. The subtracted cDNA library was constructed by suppressive subtractive hybridization (SSH), in which tester was latex poly (A+) RNA while driver was leaf poly (A+) RNA. In order to identify markers responsible for vesicle docking and fusion within the secretory pathway in rubber laticiferous vessels cell, one of these cDNA clone which is highly homologous to the gene SNAREs was isolated. According to its sequences information, we obtained a novel full-length cDNA termed R295 by using rapid amplification of cDNA ends (RACE) strategies. R295 is 1 070 bp long containing a 600 bp ORF, flanked by a 93 bp 5'-UTR and a 377 bp 3'-UTR, which are available from the GenBank databases under the accession numbers AY605930. Full-length gene of the R295 has predicted to contain 199 amino acid residues and to be of molecular masses of 22.47 kD. The deduced protein has a *pI* of 7.83. Hydrophathy and transmembrane motif analysis of deduced amino acid sequences indicated that R295 does not possess a transmembrane spanning domain, but it contains a carboxyl-terminal CAAX motif suggesting that it is post-translationally modified by the addition of a 15- or 20-carbon isoprenoid. The result of the conserved domains analysis indicated that R295 not only has a highly conserved region, SNARE coiled-coil domain, a signature motif for vesicle-associated membrane proteins (VAMP), but also contains a longin domain and a prenyl group binding site (CAAX box), it is implied that R295 would be a YKT-like SNAREs. Phylogenesis analysis revealed that R295 is the most closely related to the SNARE of *N. tabacum*. The transcripts of R295 were observed by RT-PCR. R295 was high expressed in the latex than in leaves.

**Keywords:** *Hevea brasiliensis*; latex; SNAREs; Ykt6

膜泡运输对于完成细胞器及细胞膜之间的蛋白运输功能至关重要。这种转运方式首先要确保运输

基金项目: 中国热带农业科学院科技基金项目 (Ryk0420)

作者简介: 邓柳红 (1972-), 女, 博士, 副研究员, 主要从事植物基因工程方面研究。\* 通讯作者 (Corresponding author): 张春发。

Received (收稿日期): 2006-04-11; Accepted (接受日期): 2006-10-08.

的小泡锚定在正确的目标膜上并与其融合,而这种定位机制主要由一类叫 SNAREs 蛋白(soluble-N-ethylmaleimide-sensitive fusion protein attachment protein receptor, 可溶性 N-乙基马来亚酰胺敏感因子附着蛋白的受体)所介导。SNAREs 蛋白家族与 SM (Sec1/muc18) 蛋白家族、RAB 蛋白家族、被膜蛋白复合体均属于参与膜泡运输的蛋白家族,它们在进化中高度保守<sup>[1]</sup>。

SNAREs 蛋白专一性介导着真核生物囊泡的定位与融合。不同 SNAREs 蛋白尽管在氨基酸长度和结构上有所区别,但有一段序列(长度为 55 个氨基酸)是高度保守的,称之为“SNARE 结构域(SNARE-domain)”<sup>[2]</sup>。囊泡膜与靶目标膜融合时,会形成 SNAREs 核心复合体,它由一个 R-SNAREs 和 3 个 Q-SNAREs 组成<sup>[3]</sup>。Q-SNAREs 被划分为 Qa-SNAREs、Qb-SNAREs 和 Qc-SNAREs; R-SNAREs 除含有 SNARE 结构域外,还有一个 Q-SNAREs 没有的“longin 结构域(longin-domain)”,根据 longin 结构域序列的长短 R-SNAREs 被划分为 VAMPs (小突触囊泡蛋白或称 brevins) 和 longins (突触囊泡蛋白或称 long VAMPs) 两类<sup>[4,5]</sup>; 其中 Longins 又分为 T1-VAMP<sup>[6]</sup>、Sec22<sup>[7]</sup> 和 Ykt6<sup>[8]</sup>。

高等植物中 SNAREs 蛋白以 Q-SNAREs 蛋白的研究为多,植物 SNARE 蛋白除了参与囊泡运输的基本功能,还可以促进植物细胞板形成,与离子通道蛋白相互作用,提高植物的抗病性及参与植物的向重力作用。植物 SNARE 蛋白不仅对植物生长发育起作用,在抵御生物与非生物胁迫过程中也起重要的作用<sup>[9]</sup>。Zhu 等<sup>[10]</sup> 在拟南芥中发现 OSM1/SYP6 基因与渗透胁迫及气孔关闭有关,推测部分 SNARE 蛋白同时参与了植物中依赖于 ABA 和不依赖于 ABA 的非生物胁迫信号转导过程。植物中 SNARE 蛋白可能也与动物 SNARE 蛋白一样通过与 G 蛋白作用参与胁迫条件下的信号转导途径。Collins 等<sup>[11]</sup> 在研究与大麦非寄主抗性相关基因 HvSyp121 时,发现其突变体叶片被侵染部位聚集大量载着 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的囊泡,推测突变体中由于囊泡未能与质膜融合, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 介导的抗病信号转导途径受阻,使得病原菌分泌的有毒物质进入植物体内致病<sup>[12]</sup>。

我们在筛选胶乳差异 cDNA 文库时获得了一些与囊泡运输相关的片段,其中 R295 片段通过 RACE 获得了一个包含完整 ORF 的全长 cDNA,同源比较及功能保守区分析结果表明,与 SNARE 蛋白基因同源性很高。目前,该基因在巴西橡胶树中尚未见报

道。该基因的克隆将有助于进一步了解胶乳合成过程中物质运输的定位机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

2004 年 6 月,巴西橡胶树优良品系“热研 73397”的样品采于中国热带农业科学院试验场,割胶后流出的胶乳直接滴入液氮中保存,叶片采集后立即放入液氮中保存备用。

### 1.2 橡胶树胶乳及叶片总 RNA 提取

1.2.1 橡胶树胶乳总 RNA 提取 参照 Kush 等<sup>[13]</sup> 的胶乳提取方法。取 10 mL 胶乳加等体积 2 倍胶乳 RNA 提取缓冲液,涡旋混匀,再加等体积酚/氯仿/异戊醇,涡旋混匀,4℃,9 000 × g 离心 15 min,取上清液,加入等体积酚/氯仿/异戊醇和氯仿/异戊醇各抽提一次,取上清液,加入 1/3 体积 8 mol L<sup>-1</sup> LiCl 过夜沉淀总 RNA,离心取沉淀,用 200 μL RNase-free 的 ddH<sub>2</sub>O 溶解后,加 1/10 体积 3 mol L<sup>-1</sup> NaAc (pH 5.2) 和 2 倍体积无水乙醇, -20℃ 下放置 2 h,沉淀用预冷的 75% 乙醇漂洗并干燥。

1.2.2 橡胶树叶片总 RNA 提取 取 1 g 叶片于液氮中研磨成细粉末,依次用 CTAB(溴代十六烷基三甲胺)提取液和异硫氰酸胍变性液变性抽提一次后,再依次用等体积酚/氯仿/异戊醇和氯仿/异戊醇各抽提一次,取上清液,加 1/10 体积 3 mol L<sup>-1</sup> NaAc (pH 5.2) 和 2 倍体积无水乙醇, -20℃ 下放置 2 h,沉淀用预冷的 75% 乙醇漂洗并干燥。

1.2.3 橡胶树叶片和胶乳总 RNA 纯度、浓度及完整性检测 对获得的 RNA 产物进行吸光值 A<sub>230</sub>、A<sub>260</sub>、A<sub>280</sub> 的测定,判断其浓度和纯度;并进行 2% 甲醛变性琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的完整性。纯度及完整性好的胶乳及叶片总 RNA 即用于差减 cDNA 文库构建及 RT-PCR 模板,其余样品加 3 倍体积的无水乙醇于 -70℃ 下保存。

### 1.3 采用 RACE 克隆巴西橡胶树微管相关蛋白基因全长 cDNA

1.3.1 引物设计 从抑制消减杂交获得的橡胶树差减 cDNA 文库中分离到一个与 SNARE 蛋白高度同源的基因片段 R295,根据该基因片段序列信息,设计 5' 和 3' 端特异引物, 5'-RACE-GSP: 5'-TAGGCTGTCCAGTTTCTCAC-3'; 3'-RACE-GSP: 5'-TCCCTATCCAGTCCGAAGTC-3'。

1.3.2 5' 和 3' cDNA 末端的快速扩增 (RACE) 采用 RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends) 技术进

行差异片段的 5' 和 3' 端的扩增,方法按 Clontech 公司的 SMART™ RACE cDNA Amplification Kit 说明书进行。PCR 条件为 94℃ 5 s;60℃ 10 s;72℃ 3 min, 共计 35 个循环;72℃ 再延伸 10 min。取 5 μL RACE 产物于 1% 琼脂糖凝胶电泳检测鉴定,确定 RACE 产物片段的大小。采用上海华舜生物工程有限公司的小量胶回收试剂盒进行目的片段回收。与 TaKaRa 公司的 pMD18-T 克隆载体连接后转化 *Escherichia coli* XL1-Blue 受体菌,过夜培养。次日挑取白色菌斑,经酶切鉴定后送上海生物工程有限公司测序。将通过测序获得的 5'-RACE 序列和 3'-RACE 序列去掉插入位点两侧的载体序列后,进行组装拼接,得到拼接好的全长的 cDNA 序列。

1.4 cDNA 序列及其编码氨基酸分析

利用 NCBI 的 Blast、ORF finder 和 BankIt 进行核酸和蛋白质序列比较、阅读框架确定及序列在线提交。蛋白质疏水/亲水性、分子量及等电点预测等基本性质分析在公用数据库 Workbench 上进行。前导肽、功能位点分析和序列同源比较及进化关系分析分别采用 SignalP、Motif Scan 和 Clustal W 程序进行。

1.5 表达产物检测

分别以等量的巴西橡胶树叶片总 RNA 和常割树胶乳总 RNA 为模板,进行反转录,合成单链

cDNA, RT-PCR 的正义引物为 5'-ATGAAGATC ACAGCTCT-3', 反义引物为 5'-TTACAGTATGGTC CAACA-3';以 18S rRNA 作为模板用量参照物。RT-PCR 程序为 94℃ 变性 5 min, 然后 94℃ 30 s, 58℃ 30 s, 72℃ 50 s, 25 个循环。PCR 产物于 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

2 结果和分析

2.1 巴西橡胶树 SNARE 膜相关蛋白全长 cDNA 克隆及其序列同源比较分析

获得的全长 cDNA 长度 1 070 bp, 命名为 R295。该序列中最大的一个阅读框(ORF)长度为 600 bp, 编码 199 个氨基酸残基。该 cDNA 的起始密码子 ATG 的 -3 位和 +4 位核苷酸均为嘌呤,符合 Kozak 规律;起始密码子 ATG 上游同一阅读框内含有多个终止密码子;在其阅读框终止密码子 TAA 下游同一阅读框内含有多个终止密码子,并有 polyA 尾,这些都符合有效翻译的基因的全长 cDNA 的特征<sup>[14]</sup>。因此断定克隆到的 R295 包含一个完整的阅读框,其 5'UTR 有 93 个核苷酸,3' UTR 有 377 个核苷酸(图 1)。该 cDNA 全长序列已在 GenBank 中登录(登录号 AY605930)。

1	ggc	ccg	aaa	ctg	aat	aaa	ctt	cgc	gta	aca	aag	taa	gag	aga	att	ttc	gct	tga	gag	aga	
61	gag	aga	gag	aga	ggg	aga	gag	aga	gag	aga	gag	aga	gag	aga	att	aca	gct	ctt	ttg	gta	att
121	aag	tgc	aat	cca	gag	gga	tcg	gat	tcg	gta	att	tta	gca	aac	gct	tcc	gat	gtg	agc	cat	
181	ttc	ggg	tac	ttt	cag	agg	tcc	agc	gtc	aaa	gaa	ttc	ata	gtt	ttt	gtc	agt	cgg	acc	gtc	
241	gcc	aaa	cgc	acc	cct	ccc	ggc	caa	cgc	cag	tct	gtc	cag	cac	gaa	gag	tac	aag	gtg	cat	
301	tct	tac	aac	cg	aat	ggc	ctg	tcg	gca	gtg	ggg	ttt	atg	gat	gat	ccc	tat	cca	gtc	cg	
361	agt	gca	ttt	tcc	gtt	ctc	aac	cag	gtg	cta	gat	dag	at	cag	aag	aat	ttt	ggt	gat	tca	
421	tgg	agg	act	gtg	qca	gca	gat	aat	gct	caa	ccc	tgg	cca	pat	ttg	aat	gaa	gca	ttg	acc	
481	aag	tcc	caa	gat	cct	gca	aaa	gca	cag	aag	ttg	ttg	aaa	att	cag	agg	gag	ttg	gat	gag	
541	aca	aaa	att	atc	ctt	cat	aaa	act	atc	gac	agt	gtg	ctt	gca	gga	ggt	gag	aaa	ctg	gac	
601	agc	cta	gtt	gag	ag	agt	tca	gat	ctg	agt	gct	gct	tca	cag	atg	ttc	tac	aag	cag	gca	
661	aaa	aaa	acc	aat	caa	tgt	tgc	acc	ata	ctg	taa	act	atc	aaa	gca	agc	ggc	ata	atg	taa	
721	tgc	tag	tgt	tga	ggg	ggg	lgg	ttg	aca	atg	tga	ttg	taa	tat	ggt	cat	atc	att	tat	caa	
781	ttg	ttt	gcg	tgt	cag	aac	cag	gga	ata	tcc	tta	act	gaa	tat	gct	atg	tct	gtt	atc	aaa	
841	aag	aaa	gca	aac	ctg	aat	atc	aag	att	aga	ggt	tct	tat	tat	agt	tcc	atg	cac	cat	ttt	
901	tga	tga	gca	tag	tta	gtt	cat	tta	cat	ggg	tcg	tgt	gtg	cat	att	ctt	cat	tta	aat	ctc	
961	aaa	gta	ata	cat	gtg	tgc	gag	tgt	tct	ttt	tga	gat	aaa	ctt	ggt	ctg	atg	tac	aag	ata	
1021	ttt	ccc	ccc	tta	tta	tatt	ttt	ttt	ggt	ggc	aaa	aaa	aaa	aaa	aaa	aaa	aaa	aaa	aaa	aaa	

图 1 R295 全长 cDNA 序列及其推导的蛋白质氨基酸序列

Fig.1 Nucleotide and deduced amino sequences of R295 from *Hevea brasiliensis* (GenBank Accession No. AY605930)

7-123 个氨基酸为 longin domain;139-199 个氨基酸为 SNARE domain;星号(\*)为终止密码子。  
7-123 amino acids = longin domain; 139-199 amino acids = SNARE domain; Asterisk (\*) = stop codon.

对该基因编码的氨基酸序列进行蛋白质基本性质推测分析,该蛋白质的理论分子量为 22.47 kD,等电点为 7.83。该基因编码的蛋白质没有疏水区域,不含跨膜区,但其羧基端有一个异戊烯基结合位点,可以把法尼基或牻牛儿苗基加到该位点的半胱氨酸残基上进行转录后修饰,从而将其锚于胞膜上。ROSITE 数据库分析该基因编码的氨基酸序列中包含 9 种功能位点,即 1 个 N-糖基化位点,2 个蛋白激酶位点,1 个蛋白激酶 C 磷酸化位点,2 个酪蛋白激

酶 II 磷酸化位点,1 个 N-豆蔻酰化位点,1 个异戊烯基结合位点(CAAX box),1 个 Longin 结构域(7~123 bp),1 个 v-SNARE 结构域(139~199 bp),1 个小突触囊泡蛋白(VAMP)典型基元。

多重比较结果显示 R295 与烟草(*N. tabacum*)、海岛棉(*G. barbadense*)、拟南芥(*A. thaliana*)、水稻(*O. sativa*)和酵母(*S. cerevisiae*)等 Ykt6 蛋白的同源性分别为 91%、87%、87%、79%和 45%(图 2)。

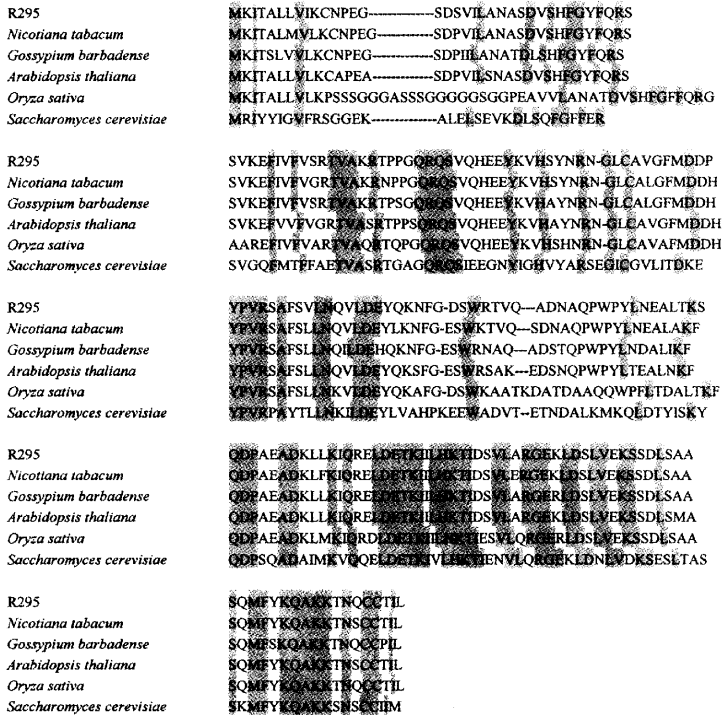


图 2 R295 与不同物种的 Ykt6 蛋白氨基酸序列同源比较

Fig. 2 Multialignment of the deduced amino acid sequences of *H. brasiliensis* R295 gene and Ykt6 from various species. 灰色表示一致氨基酸。Identical amino acid residues are highlight in grey. *N. tabacum* (GenBank™ accession No. AAD00116); *G. barbadense* (GenBank™ accession No. AAQ84317); *A. thaliana* (GenBank™ accession No. AAD00112); *O. sativa* (GenBank™ accession No. BAD81915); *S. cerevisiae* (GenBank™ accession No. CAA82040); The alignment was made using The ClustalW program.

### 2.2 巴西橡胶树 R295 基因表达分析

通过 RT-PCR 对 R295 基因表达进行分析,结果显示,该基因在胶乳中有表达,而在叶中没检测到其表达,说明该基因在乳管里特异表达(图 3)。

### 3 讨论

本研究对 R295 基因编码的氨基酸序列进行保守区及功能位点的分析表明,R295 的 N 端具有一个

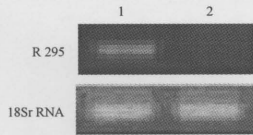


图3 R295 RT-PCR 表达分析  
Fig.3 RT-PCR analysis of R295 mRNA  
1: 胶乳 2: 叶片 1: Latex 2: Leaf

较长的Longin保守区,紧接着一段 v-SNARE 保守区。说明该基因属于 Longins。SNARE 蛋白均为膜蛋白,虽然蛋白质序列基本性质分析发现 R295 基因编码的蛋白质没有疏水区域,不含跨膜区,但其羧基端有一个异戊烯基结合位点,可以把法尼基或牻牛儿苗基加到该位点的半胱氨酸残基上进行转录后修饰,从而将其锚于胞膜上。从功能位点及 motif 分析, R295 与 Ykt6 很相似,属于一种特殊的 Longins<sup>[5]</sup>。

我们在筛选胶乳差异 cDNA 文库时除了获得 R295 外,还获得其他一些与囊泡运输相关的片段。推测在采胶后胶乳重新合成时,由于乳管内需进行大量物质运输及重新分配,这时与囊泡运输相关基因表达活跃。R295 可能在囊泡运输中起到确保运输的小泡锚定在正确的目标膜上并为之融合的作用。研究认为胶乳在伤害痊愈中起到重要的作用,可以防御食草动物及微生物的侵袭,而且在胶乳中也检测到抗真菌和细菌的物质<sup>[16]</sup>。植物 SNARE 蛋白不仅对植物生长发育起作用,在抵御生物与非生物胁迫过程中也起重要的作用,割胶作为对植物的一种外界刺激,产生相应的胁迫反应,推测 R295 也可能参与了该胁迫信号转导过程。该基因的克隆将有助于我们进一步了解胶乳合成过程中特定物质运输的定位机制及 SNARE 蛋白在巴西橡胶树割胶后细胞代谢过程中的功能。

## References

- [1] Jahn R, Sudhof T C. Membrane fusion and exocytosis. *Annu Rev Biochem*, 1999, 68(1): 863-911
- [2] Fasshauer D, Sutton R B, Brunger A T, Jahn R. Conserved structural features of the synaptic fusion complex: SNARE proteins reclassified as Q- and R-SNAREs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 15781-15786
- [3] Ossig R, Schmitt H D, de Groot B, Riedel D, Keranen S, Ronne H, Grubmuller H, Jahn R. Exocytosis requires asymmetry in the central layer of the SNARE complex. *EMBO J*, 2000, 19: 6000-6010
- [4] Bock J B, Matern H T, Peden A A, Scheller R H. A genomic perspective on membrane compartment organization. *Nature*, 2001, 409: 839-841
- [5] Filippini F, Rossi V, Galli T, Budillon A, D'Urso M, D'Esposito M. Longins: a new evolutionary conserved VAMP family sharing a novel SNARE domain. *Trends Biochem Sci*, 2001, 26: 407-409
- [6] Galli T, Zahraoui A, Vaidyanathan V, Raposo G, Min T J, Karin M, Niemann H, Louvard D. A novel tetanus neurotoxin-insensitive vesicle associated membrane protein in SNARE complexes of the apical plasma membrane of epithelial cells. *Mol Biol Cell*, 1998, 9: 1437-1448
- [7] Sacher M, Stone S, Ferro-Novick S. The synaptobrevin-related domains of Bos1p and Sec22p bind to the syntaxin-like region of Sed5p. *J Biol Chem*, 1997, 272: 17134-17138
- [8] McNew J A, Sogaard M, Lampen N M, Machida S, Ye R R, Lacomis L, Tempest P, Rothman J E, Sollner T H. Ykt6p, a prenylated SNARE essential for endoplasmic reticulum-Golgi transport. *J Biol Chem*, 1997, 272: 17776-17783
- [9] Bao Y-M(鲍永美), Wang Z-F(王州飞), Zhang H-S(张红生). Structure and function of SNAREs in plant. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 2005, 22 (6): 715-722 (in Chinese with English abstract)
- [10] Zhu J, Gong Z, Zhang C, Song C, Dams B, Inan G, Kiwa H, Zhu J, Hasegawa P M, Bressan R A. OSM1/SYP61: a syntaxin protein in *Arabidopsis* controls abscisic acid mediated and non-abscisic acid mediated responses to abiotic stress. *Plant Cell*, 2002, 14: 3009-3028
- [11] Collins N C, Hans T, Lipka V, Bau S, Kombrink E, Qiu J, Huckelhoven R, Stein M, Freialdenhoven A, Somerville S C, Paul S. SNARE-protein mediated disease resistance at the plant cell wall. *Nature*, 2003, 425: 973-977
- [12] Tsanko S G, Jacques H. Hydrogen peroxide as a signal controlling plant programmed cell death. *J Cell Biol*, 2005, 168: 17-20
- [13] Kush A, Goyvaerts E, Chye M L. Laticifer specific gene express in *Hevea brasiliensis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87: 1787-1790
- [14] Zhang Q-H(张庆华), Mao M(茅矛), Chen Z(陈竺). Progress of the full-length cDNA cloning strategy in human genome research. *Prog Biotechnol* (生物工程进展), 2000, 20(4): 3-5 (in Chinese with English abstract)
- [15] D'Auzac J, Jacob J L, Prevot J C, Clement A, Gallois R, Crestin H, Lacote R, Pujade-Renaud V, Mowtore P, Gohet E. The regulation of cis-polyisoprene production from *Hevea brasiliensis*. *Present Res Plant Physiol*, 1997, 1: 273-331