

## 通过转基因提高 $\beta$ -胡萝卜素生物合成量

季 静<sup>1,2)\*</sup>, 山村三郎<sup>2)</sup>, 西原昌宏<sup>2)</sup>, 王 罡<sup>1)</sup>, 小岩弘之<sup>2)</sup>, 朱长甫<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup>天津大学农业与生物工程学院,天津 300072;(<sup>2)</sup>日本岩手生物工程中心,岩手,日本;(<sup>3)</sup>德国法兰克福大学,法兰克福,德国)

**摘要** 在黄花龙胆 (*Getiana lutea*) 花瓣中获得了植物类胡萝卜素生物合成途径中的 5 个基因 *GGPS*、*PSY*、*ZDS*、*LycB*、*LycE*,它们分别位于类胡萝卜素合成途径中生成  $\beta$ -和  $\gamma$ -胡萝卜素的上游. 将其中的主要酶基因 *PSY*、*ZDS* 与 35S 启动子和 NOS 终止子相连,通过根癌农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 转入烟草,并通过 RT-PCR, Northern 分子杂交, Western 分子杂交等证实这些基因在 RNA、蛋白质水平能较好转录及表达. 高效液相层析法分析显示,这些基因的翻译产物具有酶活性. 结果表明, *PSY* 可使  $\beta$ -胡萝卜素含量提高 108%.

**关键词**  $\beta$ -胡萝卜素, 生物合成, 基因表达, 转基因

中图分类号 Q78, Q94

### Increase of $\beta$ -Carotene Biosynthesis by Gene Transformation

Ji Jing<sup>1,2)\*</sup>, Saburo YAMAMURA<sup>2)</sup>, Masahiro NISHIHARA<sup>2)</sup>,  
WANG Gang<sup>1)</sup>, Hiroyuki KOIWA<sup>2)</sup>, ZHU Chang-fu<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup> College of Agriculture and Bioengineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

(<sup>2)</sup> Iwate Biotechnology Research Center, Japan; (<sup>3)</sup> University of Frankfurt, Germany)

**Abstract** Five genes *GGPS*, *PSY*, *ZDS*, *LycB* and *LycE* have been isolated from the petal of *Getiana lutea*. These five genes control the biosynthesis of carotenoid in plant and are located on the upstream of the pathway of  $\beta$ - and  $\gamma$ -carotene synthesis. The genes *PSY* and *ZDS* which decide the main enzymes in the synthesis were analysed. After linked with promoter 35S and determinant *NOS*, these two genes were further transformed into tobacco via *Agrobacterium tumefaciens*. Results showed that the genes could transcript and express well after RT-PCR, Northern blot and Western blot analysis. It was demonstrated that the expressed products possessed the enzyme activity through HPLC analysis, and the gene *PSY* increased the content of  $\beta$ -carotene in transformed plants by 108%.

**Key words**  $\beta$ -carotene, biosynthesis, gene express, gene transformation

在自然界中类胡萝卜素 (carotenoid) 有 600 多种,多是 40 碳的碳水化合物,广泛存在于动植物及微生物中<sup>[1,2]</sup>,是从黄色到红色的重要色素,最明显的是动物的婚姻色和秋天多彩的树叶,它们将自然界装扮得绚丽多彩,可用于作物品质改良和观赏植物、花卉的色彩育种<sup>[3-5]</sup>. 类胡萝卜素在植物中的生理作用是吸收光能和淬灭多余的光能<sup>[6]</sup>. 有 40 余种类胡萝卜素可被人体利用,其中尤其是  $\beta$ -胡萝卜素,它不仅具有维生素 A 前体的性能,还具有其它重要的临床意义<sup>[7]</sup>: 1) 肿瘤预防,摄入  $\beta$ -胡萝卜素越多,患有各种肿瘤的机会就越少; 2) 抑制致癌因素,控制细胞间信息传递,和终止单线氧损伤 DNA; 3) 预防心血管疾病并延缓疾病的进程; 4) 降低慢性肝炎的

炎症与纤维化程度; 5) 因能改变各种免疫指标而用来治疗艾滋病; 6)  $\beta$ -胡萝卜素缺乏将导致人体角膜

收稿日期: 2003-07-11, 接受日期: 2003-09-18

日本科学技术厅国际交流中心 (JPSTE299078) 和吉林省科技厅 (No. 20020641, No. 20030120) 资助

\* 联系人: Tel: 022-87402171-808, E-mail: jijingwyr@163.com

季静, 女, 1965 年 2 月生, 博士, 教授

Received: July 11, 2003; Accepted: September 18, 2003

Supported by International Exchange Center of Scientific and Technological Department of Japan (JPSTE299078) and Scientific and Technological Department of Jilin Province (No. 20020641, No. 20030120)

\* Corresponding author Tel: 022-87402171-808

E-mail: jijingwyr@163.com

上皮脱落、增厚和角质化使角膜变浑浊,轻者会发生夜盲症,重者会造成角膜溃疡,晶体脱落以致失明。常见的症状是导致从弱视到失明,包括幼儿弱视等一系列眼病,并与流产有关<sup>[8]</sup>。

尽管 $\beta$ -胡萝卜素广泛存在于绿叶蔬菜和水果中,但由于它在没有油脂的情况下不能被吸收,因而人们缺乏 $\beta$ -胡萝卜素的情况非常普遍,尤其在亚洲、非洲、欧洲等国家<sup>[7-9]</sup>。 $\beta$ -胡萝卜素作为维生素A的前体,是补充维生素A的最好渠道,因直接补充维生素A可能导致假性脑瘤、高维生素A血症、新生儿畸形等<sup>[8]</sup>。我国居民普遍缺乏维生素A,需要补充 $\beta$ -胡萝卜素。1992年调查2~18岁少年儿童,维生素A摄入量仅占中国居民膳食营养素参考摄入量(DRI)的54.3%;1996年调查青壮年表明,维生素A缺乏症的发生率高达63.3%;1999年对退休职工营养调查表明平均维生素A摄入量仅占DRI的40%<sup>[8]</sup>。

$\beta$ -胡萝卜素已逐渐被人们所重视,2000年的金色水稻<sup>[9]</sup>轰动了世界,它是利用了类胡萝卜素生物合成途径中的3个基因:PSY基因(来自水仙花(*daffodil*))、CrtI((八氢番茄红素脱氢酶)来自微生物*Erwinia uredovora*)和LycB基因(来自水仙花属的*Narcissus pseudonarcissus*)。将它们与35S启动子相连通过根癌农杆菌转化水稻,金色水稻所用的3个基因的来源不同,背景复杂。它相当于将类胡萝卜素生物合成途径转移到水稻中<sup>[9]</sup>。就目前的转基因技术和手段而言,同时转入多个基因比转入2个基因、一个基因,需要消耗更多的时间。而且,在植物的各个器官,大多数都存在表达程度不同的类胡萝卜素生物合成途径,有时转入一个基因即能获得良好效果。

我们通过研究发现,类胡萝卜素生物合成途径中不同的基因对类胡萝卜素生物合成所起的作用不同<sup>[10-13]</sup>。我们从药用黄花龙胆花瓣中分离出了5个类胡萝卜素生物合成途径中的重要基因<sup>[11]</sup>,这5个基因编码的生物合成酶位于类胡萝卜素合成途径中生成 $\beta$ -和 $\beta$ -胡萝卜素的上游。对它们的分析和利用,将有利于更广泛地利用类胡萝卜素生物合成成为人类服务,背景相对单一。这5个基因是牻牛儿苗牻牛儿苗焦磷酸合酶(geranylgeranyl pyrophosphate synthase, GGPS),八氢番茄红素合酶(phytoene synthase, PSY), $\beta$ -胡萝卜素脱氢酶( $\beta$ -carotene desaturase, ZDS),番茄红素 $\beta$ -环化酶( $\beta$ -lycopene cyclase, LycB),番茄红素 $\beta$ -环化酶( $\beta$ -lycopene cyclase, LycE)。上述酶作用是:GGPS合成10碳的牻牛儿苗焦磷酸,之后合成法尼焦

磷酸(15碳),再合成20碳的牻牛儿苗牻牛儿苗焦磷酸。PSY聚合2分子的牻牛儿苗牻牛儿苗焦磷酸合成八氢番茄红素,这是植物类胡萝卜素生成途径中的第一个40碳的类胡萝卜素,在此基础上经脱氢、环化等形成各种其它类胡萝卜素。ZDS的作用是使经过一次脱氢的八氢番茄红素生成番茄红素(lycopene)。番茄红素是类胡萝卜素进一步合成代谢的分歧点。在LycB作用下番茄红素 $\beta$ -环化形成 $\beta$ -胡萝卜素(维生素A的前体)<sup>[5,6,12]</sup>。在LycE和LycB的共同作用下形成 $\beta$ -胡萝卜素,并进一步形成叶黄素等<sup>[5,6,12-14]</sup>。

本研究利用主效基因,通过基因工程育种方法改变代谢途径,提高 $\beta$ -胡萝卜素产量,以更好、更准确地达到农作物营养育种的目的,或通过微生物作为生物反应器来生物合成相关 $\beta$ -胡萝卜素,为满足人们的营养需要以及花卉等观赏植物的色彩育种提供重要的手段和工具。

## 1 材料方法

### 1.1 基因的分离

从药用黄花龙胆(*Gentiana lutea*)花瓣中提取总RNA,利用Straight A's mRNA isolation system (Novagen, Inc., USA)试剂盒来提纯mRNA,cDNA合成试剂盒合成cDNA并构建cDNA文库(cDNA cloning kit, Stratagene, La Jolla, CA, USA)。利用已发表相关基因的保守序列设计简并引物(degenerate primers)来分离基因。获得的阳性克隆用Big Dye<sup>TM</sup> primer cycle sequencing ready reaction试剂盒(Applies biosystems, foster city, CA, USA)在DNA序列分析仪上(PRISM<sup>TM</sup> 310 genetic analyzer, Applied biosystems)进行序列分析<sup>[11]</sup>。

### 1.2 烟草转基因

每个基因与35S启动子和NOS终止子相连,插入具有潮霉素抗性的pEBis-KH02工程载体中,通过电击法转入根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens* strain EHA 101)。培养农杆菌(48 h, YEB培养基, 30 mg/L卡那霉素, 100 mg/L壮观霉素)。3 500 r/min离心30 min,将菌悬浮于一半体积的YEB培养基中,将烟草叶放在含有农杆菌的YEB培养基中,切成3 mm × 5 mm的长方形,吸干液体后放在共培养培养基(MS培养基, 1 mg/L BA; 0.1 mg/L NAA)上的滤纸上,25℃无光共培养3 d,将其转移到选择培养基(MS培养基, 1 mg/L BA; 0.1 mg/L NAA; 灭菌之后加250~500 mg/L Claforan, 30 mg/L潮霉素)上,25℃暗培养9~10 d,移到光下继代培养直至出芽,转到发

根培养基 (MS 培养基, 250 ~ 500 mg/L Claforan, 30 mg/L 潮霉素) 进行生根。每个基因保留 15 ~ 30 系统转基因苗, 培养成为株系进行分析。

### 1.3 RT-PCR、Northern 印迹和 Western 印迹分析

分别取于 150 mg 叶片提取总 RNA 和蛋白质, RT-PCR 引物为 20 ~ 23 bp 来自黄花药用龙胆基因的相关序列:

PSY: 3'-TCT ATT TGT ACG CTA TGG GTT-5'; 5'-TGT TTG GGG TAT CAT AAA AGA-3

ZDS: 3'-TCT TGT TCT TCT GCT TCT CTTTG-5'; 5'-GAC AAC ACT AAA CTT CTC TGA-3.

利用 TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver. 2.1 进行 RT-PCR 扩增<sup>[10]</sup>。Northern 印迹分子杂交程序见文献<sup>[14-15]</sup>。将推测蛋白 20 个氨基酸序列为抗原, 委托 TaKaRa 公司制备二级抗原, 进行 Western 印迹分析。

### 1.4 HPLC

每个转基因株系测 15 株, 每株取 500 mg 第 5 叶片片组织, 抽提色素, 用 HPLC 进行测定, 同样, 每个转基因株系取 500 mg 花瓣有色部分进行色素抽提, 测定体积为 10  $\mu$ l, 用层析峰的测定面积进行统计与计算。

## 2 结果

### 2.1 相关 cDNA 克隆

克隆自黄花龙胆花瓣的牻牛儿牻牛儿焦磷酸合酶 (GGPS), 8-番茄红素合酶 (PSY), -胡萝卜素脱氢酶 (ZDS), -番茄红素环化酶 (LycE) 和 -番茄红素环化酶 (LycB) 等基因的 cDNA 克隆, 所含 cDNA 全长、编码区长度、推测编码的氨基酸数、编码蛋白分子量等列于 Table 1。

Table 1 Characterization of the cDNA clones

Gene name	Full length of cDNA	ORF (bp)	Amino acid residue	Protein $M_r$
GGPS	1482	1103	367	40 116
PSY	2085	1280	426	48 655
ZDS	2257	1763	587	65 024
LycB	2165	1526	508	57 203
LycE	1988	1586	528	59 588

这些基因与其它品种相关基因的同源性比较分析见 Table 2。与本研究所用转化受体烟草 (*Nicotiana tabacum*) 相比, GGPS 同源性为 40%, LycB 为 78%, LycE 为 39%, 而烟草的 PSY、ZDS 基因序列在基因数据库中并没有发现。这 5 个基因与拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 相比同源性从 63% ~ 82%, 与青椒 (*Capsicum*) 相比为从 38% ~ 81%, 与蕃茄

(*Lycoper esculentum*) 和向日葵 (*Helianthus annuus*) 也有较高的同源性。同源性最高的 3 个物种分别是 GGPS: 与 *Aradopsis thaliana* (63%)、*Eucommia ulmoides* (62%)、*Sinapis alba* (61%) 同源性较高; PSY: 与 *Tagetes Erecta* (86%)、*Lycoper esculentum* (83%)、*Arabidops thaliana* (77%) 同源性较高; ZDS: 与 *Citrus x paradisi* (85%)、*Zea Mays* (84%)、*Oryza Sativa* (83%) 同源性较高; LycB: 与 *Daucus Carota* (87%)、*Tomato* (79%)、*Capsicum annuus* (79%) 同源性较高; LycE: 与 *Daucus carota* (84%)、*Solanum tuberosum* (76%)、*Tagetes erecta* (71%) 同源性较高。

Table 2 Homologous comparison with other species

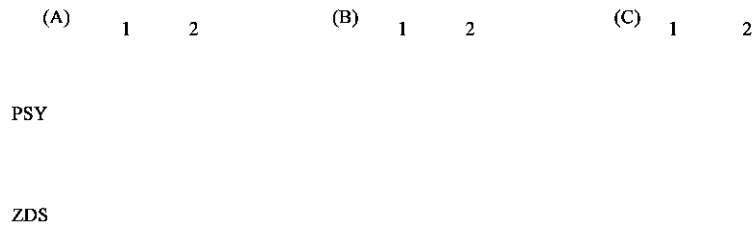
Name	GGPS	PSY	ZDS	LycB	LycE
<i>Nicotiana tabacum</i>	40 %			78 %	39 %
<i>Arabidopsis thaliana</i>	63 %	77 %	82 %	73 %	67 %
<i>Helianthus annuus</i>	60 %	69 %			
<i>Lycoper esculentum</i>		83 %	82 %	79 %	68 %
<i>Capsicum</i>	58 %	69 %	81 %	79 %	38 %

### 2.2 转基因表达的检测

PSY、ZDS 基因与 35S 启动子和 NOS 终止子相连插入具有潮霉素抗性的 pEBis-KH02 工程载体中, 通过根癌农杆菌 EHA 101 转入烟草外植体, 经 30 mg/L 潮霉素选择培养, 每个基因获得 15 ~ 30 个转基因系统。经过 3 代的遗传稳定性检测培养成株系。挑选每个基因的 8 ~ 10 个遗传稳定性高于 90% 的转基因株系, 运用 RT-PCR、Northern 印迹及 Western 印迹进行分析检测, 实验结果表明这些基因能在 RNA、蛋白质水平较好地转录与表达。

RT-PCR 简并引物以 20 ~ 23 bp 为基准, 在各个基因的 15-30 个转基因系统中, 取 8 ~ 10 个 T6 代遗传稳定性高于 98% 的转基因株系, 提取其总 RNA, 进行 RT-PCR 检测, 如 Fig. 1A 显示出各个基因的转基因株系的 RT-PCR 检测结果, 与非转基因植株相比, 这些简并引物在转基因烟草中检测到特异片段, 如箭头所示。

为进一步检测各个基因在烟草中 RNA 水平表达量, 以各相应 cDNA 片段为探针, 与上述 8 ~ 10 个转基因株系的总体 RNA 进行杂交, 如 Fig. 1B 显示有各个基因的转基因株系的 Northern 印迹分子杂交带型, 结果表明这些基因在转基因烟草中有较强的特异杂交信号, 证明外源基因得到转录, 而在非转基因烟草中没有杂交信号。



**Fig. 1** Expression of *PSY* and *ZDS* in 70 transgenic lines  
(A) RT-PCR; (B) Northern blotting; (C) Western blotting  
Line 1 is transgenic and line 2 is control

进一步对转基因烟草进行了 Western 印迹分析,以检测其蛋白表达. Anti-dig 为一级抗原,将 *PSY*、*ZDS* 的预测蛋白 20 个氨基酸序列为抗原,委托 TaKaRa 公司制备二级抗体. Western 印迹 分子杂交结果表明,这些基因能够在蛋白水平表达, Fig. 1C 显示出具有代表性的杂交带型. *PSY* 转基因烟草和非转基因烟草各有一条特异杂交信号,转基因烟草的分子量大、杂交信号强,非转基因烟草的分子量小、杂交信号较弱,表明转入的基因已经表达,并与宿主基因有同源性,有可能抑制了宿主基因的表达,所以在转基因烟草中只有一条杂交带. 相似的现象出现在 *ZDS* 转基因烟草中,不同的是 *ZDS* 有 2 条特异杂交带,这可能与存在同源基因和 mRNA 剪接等有关. 但这些蛋白是否具有酶的活性,还需对转基因植株的  $\beta$ -胡萝卜素生物合成情况进行研究.

### 2.3 各基因对 $\beta$ -胡萝卜素合成情况的影响

上述实验结果表明,5 个目的基因转入烟草后在 RNA、蛋白质水平表达较良好 (Fig. 1),那么,它们是否具有类胡萝卜素生物合成酶活性? 我们对 5 个基因的转基因烟草  $\beta$ -胡萝卜素生物合成量进行了 HPLC 检测,以分析各个基因所翻译的酶的活性和对类胡萝卜素生物合成的影响. 每个基因型取 3 个较稳定的转基因系统进一步通过抗性发芽试验,取遗传稳定性接近 100% 的 T6 转基因株系,每个株系随机取 15 株,每株取第 5 叶片的 500 mg 组织,抽提色素进行 HPLC 测定. 同样,每个转基因株系取 500 mg 花瓣有色部分进行色素抽提测定,测定体积为 10  $\mu$ l,用层析峰的测定面积进行统计及计算.

Table 3 列出了 HPLC 分析 *PSY*、*ZDS* 基因的 15 株转基因植株的第 5 叶片对  $\beta$ -胡萝卜素生成量影响的平均值. 在转 *PSY* 基因烟草叶片中, $\beta$ -胡萝卜素平均含量提高了 108%,转 *ZDS* 基因提高了 91.2%. Table 4 为 HPLC 分析 *PSY*、*ZDS* 基因的转基因株系

花瓣有色部分  $\beta$ -胡萝卜素生成量的影响情况.

**Table 3**  $\beta$ -Carotene contents of transgenic plants in leaves calculated by HPLC

Transgenic lines	$\beta$ -Carotene	
	Peak area	Raise %
<i>PSY</i>	193 379 $\pm$ 521	108.2
<i>ZDS</i>	150 731 $\pm$ 412	91.2
Wild type	92 853 $\pm$ 358	0.0

**Table 4**  $\beta$ -Carotene contents of transgenic plants in flower calculated by HPLC

Transgenic lines	$\beta$ -Carotene	
	Peak area	Raise %
<i>PSY</i>	6 903 $\pm$ 75	51.3
<i>ZDS</i>	6 727 $\pm$ 82	49.2
Wild Type	4 510 $\pm$ 77	0

实验结果表明,*PSY*、*ZDS* 基因在蛋白水平表达的产物具有酶的活性,并在转基因烟草中对  $\beta$ -胡萝卜素生物合成有显著影响.

## 3 讨论

通过对转基因株系的分析,发现 *PSY* 和 *ZDS* 对  $\beta$ -胡萝卜素的生物合成量的有显著的影响. *PSY* 基因能将  $\beta$ -胡萝卜素生成量提高了 108%. 通过 Southern 杂交分析表明,外源基因表达较好的转基因株系一般有 2~3 个拷贝,多个拷贝的则表达不稳定. *PSY*、*ZDS* 之所以对  $\beta$ -胡萝卜素生物合成的影响不同,推测一是所转入的基因表达水平不同,二是因为类胡萝卜素生物合成途径中各个酶的基因所需要的表达量及作用有一定差异,三是转基因的表达有可能会抑制宿主基因的表达,如 Fig1. C 在 *PSY*、*ZDS* 转基因系统中都有表现;四是在未转基因前烟草中的类胡萝卜素生物合成已达到了饱和,转入的这些基因能够在已得到平衡和接近饱和的烟草中得到表达,并提高其生成量,是有一定难度的. 同样假

若在不含类胡萝卜素的组织中得到表达,可能会产生更好的效果。

进一步从实际角度,可以将许多可食用的微生物、植物作为转基因生物反应器加以利用,进行品质、营养改良。在选择生物反应器——转基因受体时,应注意到人体对 $\beta$ -胡萝卜素的吸收需要油脂的存在,因此尽管金色水稻中含有较高的 $\beta$ -胡萝卜素,但是因水稻缺乏脂类而致使人类难以吸收其所含 $\beta$ -胡萝卜素。本研究对利用基因工程育种提高 $\beta$ -胡萝卜素生物合成量和提高育种效果奠定了良好的理论基础。

### 参考文献 (References)

- Zhu C F, Koiwa H, Yamamura S. Expression of early carotenogenic genes in *Gentiana*. *IBRC Report*, 1999: 38
- Schmidt-Dannert C, Umeno D, Arnold F H. Molecular breeding of carotenoid biosynthetic pathways. *Nat Biotechnol*, 2000, 18: 750 ~ 753
- Jez J M, Noel J P. A kaleidoscope of carotenoids. *Nat Biotechnol*, 2000, 18: 825 ~ 826
- Mann V, Harker M, Pecker I, Hirschberg J. Metabolic engineering of astaxanthin production in tobacco flowers. *Nat Biotechnol*, 2000, 18: 888 ~ 892
- Cunningham F X Jr, Gantt E. Genes and enzymes of carotenoid biosynthesis in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1998, 49: 557 ~ 583
- Ogura K, Koyama T, Sagami H. Polyrenyl diphosphate syntheses. *Subcell Biochem*, 1997, 28: 57 ~ 87
- 许青, 李石. 类胡萝卜素研究进展. 国外医学, 生理病理科学与临床分册 (Xu Qing, Li Shi. *Foreign Med Sci: Physiology, Pathology & Clinic*), 1996, 16(4): 249 ~ 251
- 周建烈. 维生素 A 的缺乏、补充与中毒. 中国临床营养杂志, (Zhou Jian-lie, Vitamin A deficiency supplementation and its toxicity. *Chin J Clin Nutr*), 2000, 8(4): 260 ~ 262
- Ye X, Al-Babili S, Klöti A, Zhang J, Lucca P, Beyer P, Potrykus I. Engineering the provitamin A ( $\beta$ -carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. *Science*, 2000, 287: 303 ~ 305
- Ji J, Yamamura S, Nixihala H. The role of *crt* genes of *Gentiana* on  $\beta$ -carotene synthesis in tobacco. *Ikushugaku Kenkyu*, 2001, 3(special 2): 133
- Ji J, Yamamura S, Nixihala H. Carotenoid biosynthesis regulation by *Crt* genes derived from *Gentiana lutea*. *The Conference of 19<sup>th</sup> Japanese Plant Cell and Molecular Biology*, July 2001: 40. Tokyo
- Ji J, Yamamura S, Nixihala H. Identified 7 genes (cDNA clones) by RT-PCR, Northern blot analysis, Western blot and HPLC analysis after transfer to tobacco. 2000. *IBRC Report* 48 ~ 49
- Ji J, Yamamura S, Nixihala H. Study the role of each *crt* gene on biosynthesis of provitamin A ( $\beta$ -carotene) and lutein. 2000, *IBRC Report*, 20 ~ 21
- 季静, 王罡, Belhassen E, Serieys H, Berville A. 运用 Bulked DNA-RAPD 方法寻找向日葵细胞质雄性不育核恢复基因 Rf1 探针的研究. 中国科学 C 辑, 1996, 26(4): 377 ~ 384 (Ji J, Wang G, Belhassen E, Serieys H, Berville A. Molecular markers of nuclear restoration gene Rf1 in sunflower using bulked segregant analysis-RAPD. *Sci China, Series C*, 1996, 39(5): 551 ~ 560)
- 季静, 王罡, 吴颖, 王萍. 向日葵 CMS 恢保关系的分子遗传学研究. 作物学报, (Ji Jing, Wang Gang, Wu Ying, Wang Ping. Molecular genetic studies on the restoration and maintenance in CMS sunflower. *Acta Agron Sin*), 1999, 25(6): 683 ~ 685

## 炎症中出现的 C-反应蛋白是高血压症的预兆

在炎症中出现的一种蛋白质可能是高血压的危险信号,研究者在首次大规模试验中报道了炎症与高血压的关系.该蛋白质称为 C-反应蛋白(CRP),已知在心脏病与高血压中出现.以此为据,有些医生已开始常规测试 CRP 在血中浓度升高的情况.许多研究指出,低度的炎症引起血管损伤.当 CRP 对炎症或心脏病的作用远未搞清之时,高血压便成为心脏病及卒中的最佳的识别的危险信号.研究者检查了 20 525 位妇女的血样,这些血样是早在 20 世纪 90 年代为“妇女生卫研究项目”中部分大范围研究而捐献的.进入该项研究的妇女都在 45 岁以上,无高血压、卒中或癌症病史,而约 8 年后,其中 1/4 妇女表现有高血压.研究者测量最初血样中的 CRP,然后按照志愿者的 CRP 浓度粗分为高、中、低 3 组.他们发现,低-CRP 组妇女发生高血压的人数是高-CRP 组妇女发生高血压人数的 50%.研究者报道于 2003 年 12 月 10 日的 *Journal of the American Medical Association*. 下一步,研究者排除了在数据中吸烟、肥胖、糖尿病、正在用激素治疗或高胆固醇的妇女,剩下的 6 795 位妇女中,在研究初期为低 CRP 者,其发生高血压者仍仅为高 CRP 者的 60%. 该项研究表明了高血压与炎症之间的可能的关系.但是科学家仍需用实验动物来测定炎症是否能促成高血压,直到后来才知道在提示 CRP 引起高血压的知识中还有太多的空白.最大的知识空白便是缺乏 CRP 与高血压之间关系的生物学机制.但基础研究发现某些可能的机制,例如,研究证明,暴露于 CRP 的血管衬里细胞可产生丰富的能活化血管紧张肽的表面分子,血管紧张肽可引起血压升高.其他研究提示 CRP 抑制氧化氮产生,而氧化氮是血管扩张剂.然而,由于 CRP 在炎症中的作用尚不清楚,而其与高血压的关系尚未经证实,故医生在开抗炎处方时须留心 CRP 读数过高与否,以防发生药物的副作用.

(李潇摘译自 N. Seppa: *Science News*, Vol. 164, December 13, 2003, p373)