

## 刺五加亚精胺合成酶基因的克隆及内生真菌对其表达的影响

邢朝斌, 龙月红, 李明, 梁能松, 何闪, 朱金丽, 李宝财  
河北联合大学生命科学学院, 河北唐山 063000

**摘要:** 目的 克隆刺五加亚精胺合成酶 (spermidine synthase, SPDS) 基因, 并分析内生真菌对其表达的影响。方法 采用 cDNA 末端快速扩增 (rapid amplification of cDNA ends, RACE) 技术克隆刺五加 SPDS 基因全长 cDNA 序列。运用生物信息学方法对该基因进行分析。RT-PCR 法检测内生真菌菌株 P116-1a、P116-1b、P109-4 和 P312-1 对 SPDS 基因表达的影响。结果 刺五加 SPDS 基因的 cDNA 全长为 1 541 bp, 开放阅读框长 1 002 bp, 编码 333 个氨基酸的蛋白, 包含 SPDS 家族的基本结构和标志性序列。RT-PCR 结果显示, 内生真菌可显著提高刺五加 SPDS 基因的表达量 ( $P < 0.05$ ), 最大表达量出现在菌株 P116-1b 回接 90 d 时, 是对照的 2.06 倍。结论 首次克隆了刺五加 SPDS 基因的 cDNA 全长序列, 并证实内生真菌可显著提高刺五加 SPDS 基因的表达, 为阐明内生真菌提高刺五加三萜皂苷量的机制及刺五加的抗逆性改良奠定了基础。

**关键词:** 刺五加; 亚精胺合成酶 (SPDS); 基因克隆; 表达分析; 内生真菌

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2012)11-2260-06

## Cloning of spermidine synthase gene in *Eleutherococcus senticosus* and effect of endophytic fungus on its expression

XING Zhao-bin, LONG Yue-hong, LI Ming, LIANG Neng-song, HE Shan, ZHU Jin-li, LI Bao-cai  
College of Life Science, Hebei United University, Tangshan 063000, China

**Abstract: Objective** In order to clone spermidine synthase (SPDS) gene in *Eleutherococcus senticosus* and analyze the effects of endophytic fungi on its expression. **Methods** The SPDS full-length cDNA sequence of *E. senticosus* was cloned by rapid amplification of cDNA ends (RACE). The gene was analyzed by the bioinformatics method. The effects of endophytic fungi, P116-1a, P116-1b, P109-4, and P312-1, on SPDS expression were detected by RT-PCR. **Results** The full-length cDNA of *E. senticosus* SPDS gene was 1 541 bp containing an open reading frame length of 1 002 bp that encoded protein with 333 amino acids. The predicted protein included the basic structure and typical sequences of SPDS family. RT-PCR results showed that endophytic fungi could significantly improve SPDS gene expression amount ( $P < 0.05$ ). The highest expression amount of SPDS showed up on day 90 after reinoculation with P116-1b, which was as much as 2.06 times of the control. **Conclusion** The full-length cDNA sequence of *E. senticosus* SPDS gene is successfully cloned and reported for the first time. The results demonstrate that endophytic fungi could obviously improve SPDS gene expression. This result could provide a foundation for clarifying the mechanism that endophytic fungi could improve the content of triterpenoid saponins in *E. senticosus* and for stressing the tolerance improvement.

**Key words:** *Eleutherococcus senticosus* (Ruper. et Maxim.) Maxim.; spermidine synthase (SPDS); gene clone; expression analysis; endophytic fungi

刺五加 *Eleutherococcus senticosus* (Ruper. et Maxim.) Maxim. 是我国传统的珍贵药用植物, 具有多种生理活性及药理作用<sup>[1]</sup>。内生真菌感染药用植物后, 可快速、高度专一和选择性地诱导宿主植物特定功能基因表达, 活化特定的植物次生代谢途径, 进而促使宿主植物合成和积累特定的有效成分<sup>[2]</sup>,

因而受到广泛关注。刺五加也含有丰富的内生真菌<sup>[3-5]</sup>, 其中菌株 P116-1a、P116-1b、P109-4 和 P312-1 在显著提高刺五加皂苷量的同时对宿主的正常生长发育也无不良影响<sup>[3]</sup>, 但其作用机制尚不清楚。一般认为包含内生真菌在内的胁迫条件可对次生代谢产物的形成产生影响<sup>[6]</sup>。而作为多胺 (polyamine, PA)

收稿日期: 2012-07-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30701086); 河北省自然科学基金资助项目 (C2009001252); 河北省自然科学基金-石药集团医药联合研究基金 (H2012401006)

作者简介: 邢朝斌 (1975—), 男, 副教授, 研究方向为分子药理学、药用植物细胞工程。

Tel: (0315)3726238 Fax: (0315)3726341 E-mail: xingzhaobin@yahoo.com.cn

网络出版时间: 2012-10-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20121019.1038.007.html>

重要成员的亚精胺 (spermidine, SPD) 是植物对胁迫条件作出应答的重要媒介, 而且在胁迫信号转导中作为信号分子参与植物胁迫抗性机制的构建<sup>[7]</sup>, 加之独特的分子结构而与逆境胁迫关系最为密切<sup>[8]</sup>。在 SPD 的生物合成中, 亚精胺合成酶 (spermidine synthase, SPDS) 是催化腐胺合成 SPD 的关键酶<sup>[9]</sup>, 研究表明 SPDS 基因的表达与植物响应逆境胁迫存在密切的联系<sup>[8]</sup>, 因此研究内生真菌侵入刺五加后其 SPDS 基因的表达情况, 对阐明内生真菌提高刺五加皂苷量的作用机制具有重要的意义。但由于刺五加的 SPDS 基因尚未被克隆, 致使相关研究难以开展。

本实验利用同源克隆法结合 cDNA 末端快速扩增 (rapid amplification of cDNA ends, RACE) 技术首次克隆到刺五加 SPDS 基因的 cDNA 序列, 并分析了回接内生真菌对其表达的影响, 为阐明内生真菌提高药用植物药用成分的机制奠定了基础。

## 1 材料

刺五加采自吉林省伊通满族自治县, 经河北联合大学邢朝斌副教授鉴定, 栽植于干净河沙中。菌株 P116-1a、P116-1b、P109-4 和 P312-1, 由本课题组分离、鉴定和保藏。甘油冻存保藏法存于 -70 °C 冰箱备用, 使用之前接种在马铃薯葡萄糖培养基 (PDA) 上, 28 °C 活化培养 7 d。

RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit 购自 Fermentas 公司; 植物 RNA 提取试剂盒, dCTP、dNTP、TOP-10 感受态细胞, 琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒, PGM-T 克隆试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司; PrimeScript 逆转录酶、3'-Full RACE Core Set Ver.2.0、RNase H、TdT、LA Taq DNA 聚合酶购自 Takara 公司; 质粒小提试剂盒, PCR 产物纯化试剂盒, Taq DNA 聚合酶购自 Biomiga 公司; 其他试剂均为国产分析纯。引物委托上海生工生物工程股份有限公司合成。

## 2 方法

### 2.1 刺五加总 RNA 的提取和 SPDS 基因保守区的获得

按照植物 RNA 提取试剂盒说明书的要求, 称取 0.1 g 刺五加叶片提取总 RNA。

利用 DNAMAN 6.0 软件分析已知物种 SPDS 基因的核苷酸序列, 在保守区域设计一对寡核苷酸简并引物。上游引物 SPSS-1: 5'-TGGTT(C/T)TCTGA(A/G)AT(C/T)AGCCC-3', 下游引物 SPSX-1:

5'-CCACTTGG(A/G)TA(A/T/G/C)GTAGGAAC-3'。取总 RNA 3 μL, 以 Oligo (dT)<sub>18</sub> 为引物, 根据 RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit 的说明进行逆转录反应。以逆转录获得的 cDNA 为模板, 使用 SPSS-1 和 SPSX-1 引物 PCR 扩增刺五加 SPDS 基因的保守片段。反应体系 50 μL, 其中上下游引物各 2 μL, 10×LA Taq 缓冲液 (含 15 mmol/L MgCl<sub>2</sub>) 5 μL, 2.5 mmol/L dNTP 4 μL, 模板 cDNA 1 μL, LA Taq 酶 0.5 μL, 补 ddH<sub>2</sub>O 至 50 μL。反应条件为: 预变性 94 °C、3 min; 变性 94 °C、30 s; 退火 52 °C、30 s; 延伸 72 °C、50 s。35 个循环后 72 °C 延伸 5 min。PCR 产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳后, 切胶回收纯化, 克隆至 PGM-T vector 载体, 转化大肠杆菌 TOP10 后提取重组质粒并送 Invitrogen 公司测序。

### 2.2 5'RACE 技术获取刺五加 SPDS 基因 cDNA 5' 末端序列

根据“2.1”项中所获得的刺五加 SPDS cDNA 的保守片段, 设计 5'RACE 特异性引物 SPS52: 5'-ATGGAAGAATGGCGAGACACCT-3' 和 SPS51: 5'-ACCATCTCCTCCTCCAATAACC-3', 参照罗聪等<sup>[10]</sup>的方法, 进行逆转录、加尾和 5'RACE 扩增。按照“2.1”项中的方法回收、克隆、测序。

### 2.3 3'RACE 技术获取刺五加 SPDS 基因 cDNA 3' 末端序列

根据“2.1”项中所获得的刺五加 SPDS cDNA 的保守片段, 设计 3'RACE 特异性外侧引物 SPS32: 5'-TGAGGTGTCTCGCCATTCTTCC-3' 和内侧引物 SPS31: 5'-TCCCATAGGTCTGCACAAG-3'。按照 3'-Full RACE Core Set Ver. 2.0 说明书的要求逆转录和进行 2 轮套式 PCR 反应, 反应体系中模板量为 3 μL, 2 轮 PCR 的退火温度均为 55 °C, 延伸均为 90 s, 其他按照说明书进行。按照“2.1”项中的方法回收、克隆、测序。

### 2.4 刺五加 SPDS 基因全长的拼接与 PCR 验证

利用 DNAMAN 6.0 软件将“2.1”项中获得的保守序列、“2.2”项中获得的 5'末端序列和“2.3”项中获得 3'末端序列进行拼接, 获得刺五加 SPDS 基因的全长 cDNA 序列。根据拼接的序列, 设计扩增刺五加 SPDS 基因全长 cDNA 的上游引物 ESPAS: 5'-TATTTTCGGGCACATACAA-3' 和下游引物 ESPASX: 5'-AAACTCCCAAGTCTTCTCC-3'。以“2.1”项中逆转录的 cDNA 为模板, PCR 扩增

SPDS cDNA 的全长序列。PCR 反应体系为 25  $\mu$ L, 其中上、下游引物各 1  $\mu$ L, 10 $\times$ LA *Taq* 缓冲液(含 15 mmol/L MgCl<sub>2</sub>) 2.5  $\mu$ L, 2.5 mmol/L dNTP 2  $\mu$ L, 模板 cDNA 1  $\mu$ L, LA *Taq* 酶 0.3  $\mu$ L, 补 ddH<sub>2</sub>O 至 25  $\mu$ L。反应条件为 94  $^{\circ}$ C、3 min; 94  $^{\circ}$ C、1 min; 48  $^{\circ}$ C、30 s; 72  $^{\circ}$ C、80 s, 35 个循环后 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。参照“2.1”项中的方法回收、克隆、测序。

### 2.5 刺五加 SPDS 基因的生物信息学分析

通过 DNAMAN 6.0 将刺五加 SPDS 基因 cDNA 全长序列翻译成氨基酸序列; 通过 PROSITE 进行蛋白质功能结构域分析; 利用 ProtParam 预测蛋白质的基本理化性质; 利用 PSORT 进行蛋白的亚细胞定位; 利用 SOPMA 进行蛋白质二级结构分析; 使用 MEGA 5.05 软件中的邻位相连(Neighbour-joining, NJ)法构建系统发育树。使用在线工具 Swiss-Model 进行蛋白质的三维结构预测。

### 2.6 内生真菌对刺五加 SPDS 基因表达的影响

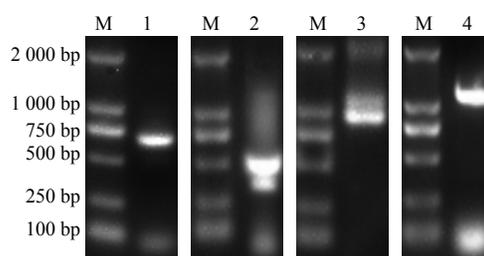
刺五加叶片完全展开后, 参照文献的方法<sup>[3]</sup>回接菌株 P116-1a、P116-1b、P109-4 和 P312-1, 每处理 5 株。按照“2.1”项的方法, 在回接第 5、6、7 和 8 个月分别提取各样本叶片的总 RNA 并进行逆转录。利用上游引物 RGS: 5'-GCAAGGACTGGAG-AGGTG-GA-3'和下游引物 RGX: 5'-AGTGGGAA-CTCGGAAGGACA-3'扩增作为内参照基因的甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因(GAPDH), 预计扩增 134 bp。利用上游引物 RSPSAS: 5'-CTTCGTCGTATGGAA-AGG-3'和下游引物 RSPSAX: 5'-AACAAAGTGGC-AGATGAG TA-3'扩增刺五加的 SPDS 基因, 预计扩增 103 bp。反应体系为 25  $\mu$ L: 上下游引物(10 mmol/L)各 1  $\mu$ L, 10 $\times$ 缓冲液(含 15 mmol/L MgCl<sub>2</sub>) 2.5  $\mu$ L, 2.5 mmol/L dNTP 2  $\mu$ L, 模板 cDNA 1  $\mu$ L, *Taq* 酶 1  $\mu$ L, 补 dd H<sub>2</sub>O 至 25  $\mu$ L。PCR 条件为: 预变性 94  $^{\circ}$ C、3 min; 变性 94  $^{\circ}$ C、30 s; 退火 30 s, 温度分别为 55  $^{\circ}$ C (GAPDH) 和 50  $^{\circ}$ C (SPDS); 延伸 72  $^{\circ}$ C、10 s。35 个循环后 72  $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 4  $^{\circ}$ C 终止反应。参照文献方法<sup>[11]</sup>进行表达分析。

## 3 结果与分析

### 3.1 刺五加 SPDS 基因的克隆

利用简并引物 SPSS-1 和 SPSSX-1 对刺五加的 cDNA 进行 PCR 扩增, 测序获得一条 680 bp 的条带(图 1)。经 NCBI 的 BLAST 比对, 确定该序列为刺五加 SPDS 基因 cDNA 的部分片段。以 cDNA 的加尾产物为模板, 利用引物对 AP 长-SPSS52 和

AP 短-SPSS51 进行的 5'RACE 扩增获得长约 500 bp 的片段(图 1)。利用 3'RACE Outer Primer-SPSS32 和 3'RACE Inner Primer-SPSS31 引物对, 3'RACE 获得长约 900 bp 的片段(图 1)。将所获得的保守区段、5'末端和 3'末端 cDNA 序列进行拼接, 应用 NCBI 的 ORF finder 软件对该 cDNA 序列进行 ORF 分析, 发现该序列包含刺五加 SPDS 基因的完整 ORF。以刺五加的 cDNA 为模板, 利用引物 ESPSAS 和 ESPSAX 扩增获得一条 1 179 bp 的条带(图 1), 与预期大小相符。该片段的测序结果与保守区段、5'末端和 3'末端 cDNA 序列拼接获得的序列完全相同。



1-SPDS 基因保守区的 PCR 扩增 2-SPDS 基因的 5'RACE  
3-SPDS 基因的 3'RACE 4-SPDS 基因 cDNA 全长的 PCR 扩增  
M-DL2000 DNA Marker  
1-PCR amplification of SPDS gene conserved fragment 2-5'RACE  
of SPDS gene 3-3'RACE of SPDS gene 4-amplification of cDNA  
full-length sequence of SPDS gene M-DL2000 DNA Marker

图 1 刺五加 SPDS 基因的克隆

Fig. 1 Gene cloning of SPDS gene in *E. senticosus*

### 3.2 刺五加 SPDS 基因的生物信息学分析

刺五加 SPDS 基因全长 1 541 bp (GenBank 登录号: JQ365624), 其中 5'端非翻译区(5'UTR)长 85 bp, 3'端非翻译区(3'UTR)长 454 bp, 终止密码子为 TGA, ORF 长 1 002 bp, 编码 333 个氨基酸的蛋白质, 3'端具有 poly A 尾。预测的蛋白质相对分子质量为  $3.6419 \times 10^4$ , 理论等电点(pI)为 4.92。氨基酸序列与人参、蓖麻和毛果杨的同源性分别达到 94.3%、83.5%和 83.4%。

通过 NCBI 的 BLAST 比对发现, 刺五加 SPDS 蛋白与已知的蛋白质结构功能数据库中其他物种的 SPDS 具有相似的结构功能域。刺五加 SPDS 的 45~329 氨基酸为 SPDS 家族的基本结构, 123~136(VLVIGGGDGGVLR)氨基酸残基处为 SPDS 的标志性序列。通过 TMHMM 软件分析得知, 刺五加 SPDS 蛋白无跨膜区域, 全部存在于膜外, PSORT 服务器的亚细胞定位分析表明, 刺五加的

SPDS 定位于细胞质中。运用 Sopma 软件预测刺五加 SPDS 蛋白的二级结构的结果表明, 该蛋白含有 114 个  $\alpha$  螺旋, 占 34.23%; 72 个延伸链, 占 21.62%; 24 个  $\beta$  折叠, 占 7.21%; 123 个无规则蜷曲, 占 36.94% (图 2)。刺五加 SPDS 蛋白质的三维结构如图 3 所示, 其中模型覆盖范围为 40~329 bp, 模型样本为 [1xj5C] (2.70 Å), 序列一致性为 86.55%。

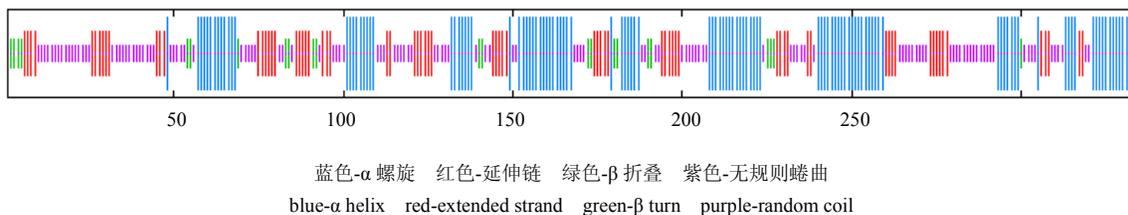


图 2 刺五加 SPDS 蛋白二级结构的预测

Fig. 2 Prediction of protein secondary structure of SPDS protein in *E. senticosus*

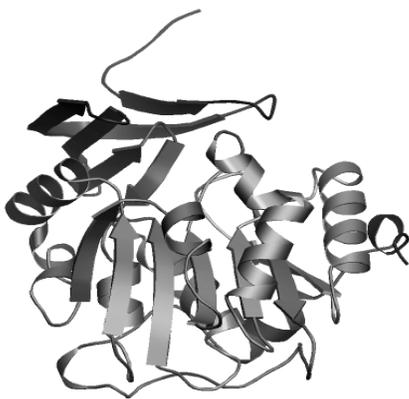
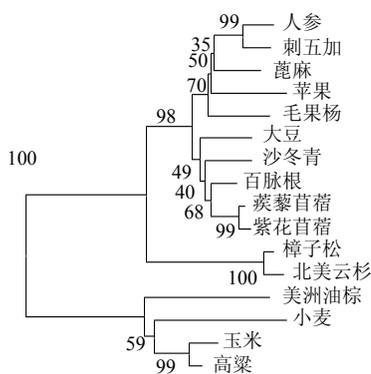


图 3 刺五加 SPDS 蛋白三级结构

Fig. 3 Tertiary structure of SPDS protein in *E. senticosus*



分支上的数字为可信度 / %

Number at each branch is the degree of confidence / %

图 4 SPDS 蛋白的系统进化树

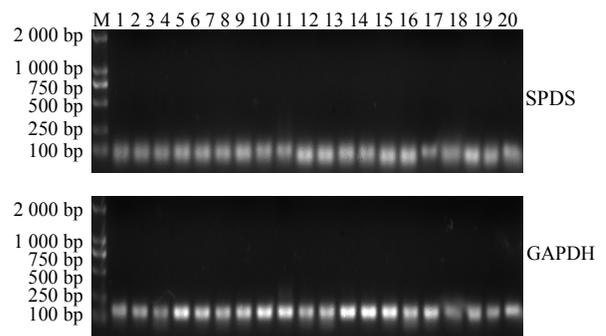
Fig. 4 Phylogenetic tree of SPDS protein

### 3.3 SPDS 蛋白的分子系统进化分析

利用 MEGA 5.05 软件, 将 GenBank 中登载的 15 种植物的 SPDS 蛋白与刺五加 SPDS 的编码蛋白进行聚类分析, 构建 SPDS 系统进化树, 见图 4。刺五加与同为五加科的人参亲缘关系最近, 首先聚为一支, 可信度 99%, 之后与其他双子叶植物聚为一个大的分支, 单子叶植物、裸子植物分别聚为一个分支, 这与传统的分类结果相一致。

### 3.4 内生真菌对 SPDS 基因表达的影响

回接各内生真菌菌株后, 刺五加 SPDS 基因表达量的变化如图 5 和 6 所示。回接 30 d 时, 各宿主刺五加 SPDS 基因的表达量较未接菌植株的表达量均不同程度升高, 其中菌株 P116-1a 处理的表达量最高, 达对照的 1.39 倍, P116-1b 和 P312-1 处理的表达量次之, 三者均显著高于对照的表达量 ( $P < 0.05$ ), 菌株 P109-4 处理的表达量虽也高于对照, 但不具有统计学意义。回接各菌株 60~90 d 时, 4



1~4-P116-1a 5~8-P116-1b 9~12-P109-4 13~16-P312-1  
17~20-对照 1、5、9、13、17-回接 30 d 2、6、10、14、18-回接  
60 d 3、7、11、15、19-回接 90 d 4、8、12、16、20-回接 120 d  
1~4-P116-1a 5~8-P116-1b 9~12-P109-4 13~16-P312-1  
17~20-control 1, 5, 9, 13, and 17-30 d after reinoculation 2, 6, 10, 14,  
and 18-60 d after reinoculation 3, 7, 11, 15, and 19-90 d after  
reinoculation 4, 8, 12, 16, and 20-120 d after reinoculation

图 5 内生真菌对刺五加 SPDS 基因表达影响的 RT-PCR 分析

Fig. 5 RT-PCR analysis on gene expression of SPDS in *E. senticosus* affected by endophytic fungi

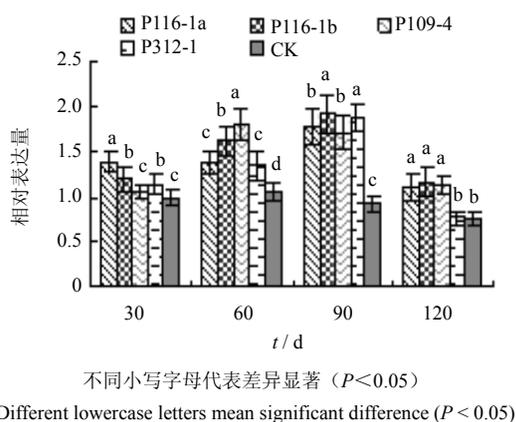


图 6 内生真菌对刺五加 SPDS 基因表达的影响  
Fig. 6 Effect of endophytic fungi on gene expression of SPDS in *E. senticosus*

株真菌处理的 SPDS 表达量均显著高于对照 ( $P < 0.05$ ), 其中, 60 d 时, 回接 P109-4 菌株处理的表达量最高, 为对照的 1.71 倍, 90 d 时回接 P116-1b 菌株处理的表达量最高, 为对照的 2.06 倍。回接 120 d 时, 对照与 4 个菌株处理的 SPDS 表达量均开始下降, 但 P116-1a、P116-1b 和 P109-4 菌株处理的表达量仍显著高于对照 ( $P < 0.05$ ), 而菌株 P312-1 处理的表达量与对照间无显著差异。

#### 4 讨论

近年来, 参与植物对多种胁迫条件作出反应的多胺的生物合成相关酶基因的克隆与分析成为研究热点<sup>[7-9,12-13]</sup>。本实验首次克隆了刺五加 SPDS 基因的 cDNA 全长序列, 其编码蛋白与多种植物的 SPDS 高度同源, 其中与同属五加科的人参的 SPDS 同源性高达 94.3%。SPDS 属于腐胺氨丙基转移酶 (putrescine aminopropyl transferase, PAPT) 家族, PAPT 家族均包含标志性序列 [V-(LA)-(LIV)(2)-G-G-G-X-G-X(2)-(LIV)-X-E]<sup>[12]</sup>, 刺五加的 SPDS 蛋白 123~136 氨基酸残基 (VLVIGGGDGGVLRE) 与此完全相符。三维结构研究表明, 人参<sup>[12]</sup>和海栖热袍菌<sup>[14]</sup> SPDS 蛋白的 C 末端具有一个 Rossmann-like fold 结构, N 末端具有一个  $\beta$  折叠结构, 刺五加 SPDS 的三维模型中也具备这两个结构。

以刺五加的叶片为材料的半定量 RT-PCR 分析结果表明, 自萌芽开始至叶片衰老的整个生长期, SPDS 基因在刺五加的叶片中均有较高水平的表达, 这一特点与人参<sup>[12]</sup> SPDS 表达的特点相符, 而与黄瓜<sup>[13]</sup>中仅在幼叶中高表达, 成熟叶中表达量甚

微的特点不同。回接 4 株内生真菌后, 在较短的时间内即可引起宿主刺五加 SPDS 基因的高表达, 而此时刺五加中参与三萜皂苷生物合成的酶基因尚未出现高表达。之所以出现这种现象, 主要与 SPDS 基因的催化产物 SPD 是植物作为在胁迫信号转导中的信号分子参与植物胁迫抗性机制的构建<sup>[7]</sup>有关。同时, 对人参施用外源 SPD 的研究结果表明, 一定浓度的 SPD 可诱导人参毛状根的生长, 并促进三萜皂苷的积累<sup>[15]</sup>。因此, 作为逆境条件的内生真菌引起的宿主刺五加 SPDS 基因的高表达, 在三萜皂苷合成相关酶基因的高表达并最终在宿主刺五加体内形成植物保卫素 (三萜皂苷) 高量的现象中发挥着重要的作用。

本实验首次克隆了刺五加 SPDS 基因的 cDNA 全长序列, 生物信息学的分析结果表明刺五加 SPDS 基因具有 SPDS 家族的基本结构及标志性序列, 并证实回接可提高刺五加皂苷量的 4 株内生真菌, 显著提高了宿主 SPDS 基因的表达量。研究结果为阐明内生真菌提高刺五加皂苷量的基因机制, 及利用该基因对刺五加进行提高抗逆性的基因工程研究奠定了基础。

#### 参考文献

- [1] 张宝香, 姜英, 张雅凤. 刺五加叶研究新进展 [J]. 特产研究, 2009, 31(4): 69-70.
- [2] Ryan C A, Farmer E E. Oligosaccharide signals in plants: a current assessment [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1991, 42: 651-674.
- [3] 邢朝斌, 熊亚南, 劳风云, 等. 刺五加内生真菌对刺五加苷 B 和 E 含量的影响 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(25): 12010-12011.
- [4] 熊亚南, 邢朝斌, 吴鹏, 等. 刺五加内生真菌分离及分布研究 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(24): 11347-11348.
- [5] Müller P, Döring M. Isothermal DNA amplification facilitates the identification of a broad spectrum of bacteria, fungi and protozoa in *Eleutherococcus* sp. plant tissue cultures [J]. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 2009, 98(1): 35-45.
- [6] 陈美兰, 黄璐琦, 欧阳少华, 等. 植物内生菌对道地药材形成的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(9): 40-42.
- [7] Kasukabe Y, He L, Nada K, et al. Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress-regulated genes in transgenic *Arabidopsis*

- thaliana* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2004, 45(6): 712-722.
- [8] Alcázar R, Marco F, Cuevas J C, *et al.* Involvement of polyamines in plant response to abiotic stress [J]. *Biotechnol Lett*, 2006, 28(23): 1867-1876.
- [9] 刘颖, 王莹, 龙萃, 等. 植物多胺代谢途径研究进展 [J]. *生物工程学报*, 2011, 27(2): 147-155.
- [10] 罗聪, 何新华, 陈虎, 等. 一种高效获取基因 5'末端的 RACE 方法 [J]. *植物生理学报*, 2011, 47(4): 409-414.
- [11] 邢朝斌, 龙月红, 吴鹏, 等. 刺五加皂苷合成关键酶基因表达的半定量 RT-PCR 分析 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2011, 30(6): 691-696.
- [12] Parvin S, Kim Y, Pulla R, *et al.* Identification and characterization of spermidine synthase gene from *Panax ginseng* [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(2): 923-932.
- [13] Wang Q, Yuan G, Sun H, *et al.* Molecular cloning and expression analysis of spermidine synthase gene during sex reversal induced by ethrel in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. *Plant Sci*, 2005, 169(4): 768-775.
- [14] Korolev S, Ikeguchi Y, Skarina T, *et al.* The crystal structure of spermidine synthase with a multisubstrate adduct inhibitor [J]. *Nat Struct Biol*, 2002, 9(1): 27-31.
- [15] Hwang S, Kim K, Pyo B, *et al.* Saponin production by hairy root cultures of *Panax ginseng* C. A Meyer: Influence of PGR and polyamines [J]. *Biotechnol Bioeng*, 1999, 4(4): 309-312.

## 欢迎订阅

### *Chinese Herbal Medicines* (CHM, 中草药英文版)

我国第一份中药专业的英文期刊——*Chinese Herbal Medicines* (CHM, 中草药英文版) 经国家新闻出版总署批准, 已于 2009 年 10 月正式创刊, 国内统一连续出版号为: CN12—1410/R。

CHM 由天津药物研究院和中国医学科学院药用植物研究所主办, 天津中草药杂志社出版。中国工程院院士、中国医学科学院药用植物研究所名誉所长肖培根教授担任主编; 中国工程院院士、天津药物研究院刘昌孝研究员, 天津药物研究院院长汤立达研究员, 中国医学科学院药用植物研究所所长陈士林研究员共同担任副主编; 天津药物研究院医药信息中心主任、《中草药》杂志执行主编陈常青研究员担任编辑部主任。

**办刊宗旨** 以高起点、国际化为特点, 继承和发扬祖国医药学遗产, 报道和反映中草药研究最新进展, 宣扬我国中草药的传统特色, 加强与世界各国在传统药物研究的经验交流, 在中医和西医、传统与现代、东方与西方之间架起一座理解和沟通的桥梁, 促进中药现代化、国际化。

**主要栏目** 综述与述评、论著、快报、简报、文摘、信息和国际动态、人物介绍、来信、书评等栏目。

**读者对象** 国内外从事中医药研究、管理、监督、检验和临床的专业技术人员。

CHM 邀请相关领域的院士和国内外知名专家加盟, 组建一支国际化、高水平、精干的编委会队伍 (第一届编辑委员会由 49 位专家组成, 其中院士 10 名, 国际编委 19 名)。吸引国内外高质量的稿件, 提高期刊的学术质量; 坚持按照国际标准编排, 加强刊物规范化和标准化, 充分利用计算机、网络技术和英语, 加强与国际知名科技期刊的交流合作; 充分发挥中医药特色, 争取在较短时间内进入国际最著名的检索系统——美国科学引文索引 (SCI), 把 CHM 办成国际知名期刊之一。

欢迎广大作者踊跃投稿! 欢迎广大读者积极订阅! 自办发行, 直接与编辑部订阅!

本刊已正式开通网上在线投稿系统。欢迎投稿、欢迎订阅! 网址: [www.tiprpress.com](http://www.tiprpress.com)

### *Chinese Herbal Medicines* (CHM, 中草药英文版) 编辑部

天津编辑部

地址: 天津市南开区鞍山西道 308 号

邮编: 300193

E-mail: [chm@tiprpress.com](mailto:chm@tiprpress.com)

Tel: (022)23006901

Fax: (022)23006821

北京编辑部

地址: 北京市海淀区马连洼北路 151 号

邮编: 100193

E-mail: [bjchm@tiprpress.com](mailto:bjchm@tiprpress.com)

Tel: (010)57833035

Fax: (010)57833035

开户银行: 兴业银行天津南开支行

账号: 44114010010081504

户名: 天津中草药杂志社