微生物学报 37(5):355~361,1997
Acta Microbiologica Sinica

紫云英根瘤菌共同结瘤基因 nodA 和 nodBC 的核苷酸序列

沈思师　宫　澜　金润之

(中国科学院上海植物生理研究所　上海 200032)

摘　要　以^{32}P标记的苜蓿根瘤菌(*Rhizobium meliloti*)2.3kb nod DNA作探针,从紫云英根瘤菌(*Rhizobium huakuii* 即 *R.astragali*)159基因文库中分离到一株能与探针DNA呈阳性反应的克隆pRaN109。同源DNA-DNA杂交及DNA序列分析表明:pRaN109DNA的9kb EcoRI片段上携带了nodD_1BC基因,pRaN109 NDA的18kb EcoRI片段上携带了nodD_2A基因。共同结瘤基因nodA与nodBC两者相距6.7kb。在nodA基因和nodBC基因的上游都存在有结瘤盒(nod box)。与来自不同种属的菌株所报告的结果相比较,紫云英根瘤菌159中的共同结瘤基因有着明显不同的组合。

关键词　紫云英根瘤菌,共同结瘤基因,核苷酸序列

豆科植物紫云英是生长于我国南方的重要绿肥之一,紫云英根瘤菌感染紫云英后形成有效的固氮根瘤。已有的研究结果表明,在根瘤菌中与结瘤作用有关的结构基因有共同结瘤基因(common nod)和寄主专一性结瘤基因(hsn)。共同结瘤基因nodABC已经在所有研究过的根瘤菌(*Rhizobium*),慢生型根瘤菌(*Bradyrhizobium*)和固氮根瘤菌(*Azorhizobium*)中找到。它们在结构上高度保守,可以在所有的根瘤菌中互换而保留其功能。在绝大多数根瘤菌中,nodABC基因形成一个转录单位或基因簇并与结瘤调节基因nodD相邻,转录方向相反,共同组成一个调控元[1]。

本文报告紫云英根瘤菌nodABC基因的序列测定和分析,并进行初步的讨论。

1　材料和方法

1.1　菌株和质粒

紫云英根瘤菌159是野生型菌株。大肠杆菌 *E.coli* JM101, 载体 M_{13}mp18,M_{13}mp19均购自New England Biolabs,. pRmSL42是带完整的Rm nodAB及部分nodC,nodD基因的重组质粒,

1.2　酶和试剂

限制性内切酶购自华美生物工程公司。DNA测序试剂盒购自美国Promega公司。

1.3　DNA制备,杂交试验

质粒DNA制备,Southern转移,缺口翻译,DNA杂交按Maniatis等人[2]的方法进行,探

本文于1996年2月12日收到.

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

针 DNA 用α-^{32}P dATP 标记，其放射性比强度为 7×10^7cpm / μg。

1.4 DNA 序列测定

将各酶解片段分别克隆到 M_{13}mp18 及 M_{13}mp19 载体，按 Maniatis 等人的方法转染，挑取白噬斑，纯化后制备单链 DNA，以 ABI 公司出品的 307ADNA 分析仪测定核苷酸序列。

2 结果和讨论

2.1 pRaN109 的分离

作者曾以^{32}P标记的2.3kb Rm nodDABC DNA(来于质粒pRmSL42的BamHI-HindIII的酶解物)作探针经原位杂交从紫云英根瘤菌159基因文库中分离到带nodD基因的克隆pRaN108[3]。经重复从紫云英根瘤菌159基因文库中筛选，又分离到一株能与Rm nodDABC DNA探针有阳性反应的克隆pRaN109。pRaN109经EcoRI酶解得18kb和9kb二个片段。滤膜杂交结果表明18kb，9kb这二个片段均能与Rm nodDABC DNA探针杂交。其中pRaN109中的9kb EcoRI片段其酶解图谱与pRaN108中的9kb EcoRI片段完全一致。因此，pRaN108和pRaN109是具有9kb重叠的相邻的克隆(图1)。

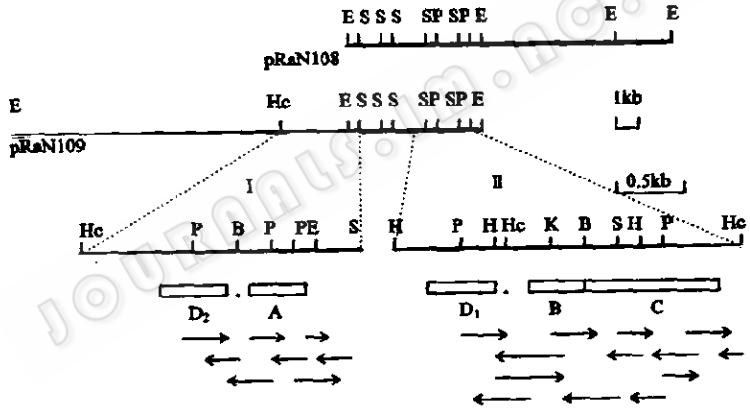

图1 pRaN109的限制性酶切图谱及nodA,nodBC基因的序列测定示意图

限制性酶切位点：B-Bgl II，E-EcoRI，H-HindIII,Hc-HincII,K-KpnI,P-PstI,S-SalI,框表示nodA和nodBC的编码区，箭头代表序列测定的方向和长度。I.区域I；II.区域II；A，nodA；B，nodB；C，nodC；D_1,nodD_1；D_2,nodD_2；·结瘤盒。

Fig.1 Restriction map of pRaN109 and strategy for sequencing of nodA and nodBC genes Restriction sites: B-Bgl II, E-EcoRI, H-HindIII,Hc-HincII,K-KpnI,P-PstI,S-SalI.Boxes indicated the coding region of nodA and nodBC, light arrows indicated the sequencing direction and length. I,region I; II,region II; A,nodA; B,nodB; C,nodC; D_1,nodD_1; D_2,nodD_2; · nod-box.

经进一步对pRaN109 DNA的物理图谱分析及各酶解片段的分子杂交结果表明，pRaN109 DNA中有二个区域存在有Rm nodDABC的同源片段。即区域I(2.8kb HincII-SalI片段)和区域II(3.7kb HindIII-HincII片段)。

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

2.2 pRaN109 的区域 I 及区域 II 的核苷酸序列测定

以噬菌体 M_{13}mp18 和 M_{13}mp19 为载体构建亚克隆,按图 1 所示对区域 I 和区域 II 的大部分 DNA 片段进行了序列测定。在区域 I 中找到有两个开放阅读框架。ORF1 与 nodD 同源(待发表)。ORF2 从 1 位的起始密码子 ATG 到 591 位的终止密码子 TAG 共 591bp,编码 196 个氨基酸(图 2)。在起始密码子 ATG 的上游−12～−8位处有 AGAAA 的 SD 序列。将

```
        ←— nodD2
-184  CTT TAC GTACAGG
                GTCCGCGGTCGTCCATCGAGTGGCCATCCATCGAGTGGATACCTTACATCGAAACAAAGGATTTTATTGTCGTTCT
 -99  GGAATCTTGCATGGACAAACACCTGACGCGCCGATCACCGCTGCCCTCTATGCCGTGATGTAGCGTCTTACGAGACAGCCCGAAAGG
                -11
 -12  AGAAATTCTTCCATG CGC TCA GCC GTG CAG TGG AGA TTG TGC TGG GAA AAT GAC CTG CAA CTG ACC GAC
      .....      M   R   S   A   V   Q   W   R   L   C   W   E   N   D   L   Q   L   T   D
  58  CAT GTC GAA CTC TCC GAC TTC TTC CGA AAG ATC TAT GGC CGA ATT GGG AGC TTC GAC GCA AAG CCG
      H   V   E   L   S   D   F   F   R   K   I   Y   G   R   I   G   S   F   D   A   K   P
 124  TTC GAA GGC TGT CGC AGT TGG GCC GGC GCG AGA CCG GAA GTC CGC CTA ATT GCT AGC GAC GCG CAG
      F   E   G   C   R   S   W   A   G   A   R   P   E   V   R   L   I   A   S   D   A   Q
 190  GGT ATA GCC GCA CAC GTC GGC ATA CTG CGA CGA TTC ATC AAG GTG GGC GAG GTC GAT CTC TTA GTA
      G   I   A   A   H   V   G   I   L   R   R   F   I   K   V   G   E   V   D   L   L   V
 256  GCT GAG TTA GGA TTG TAC GGG GTT CGG CCG GAT CTA GAG AAG CTC GGA ATC AGC TTT TCA ATG CGC
      A   E   L   G   L   Y   G   V   R   P   D   L   E   K   L   G   I   S   F   S   M   R
 322  ATG GTG CAT CCA GTT CTG CAG CAG CTA TGT GTC CCC TTC GGC TTT CGG CAC GGT TCG CCT AGC AAA
      M   V   H   P   V   L   Q   Q   L   C   V   P   F   G   F   R   H   G   S   P   S   K
 388  TGC GTA GCC ATG TGT AGA GTT TCT GCA GAG AGG TAT AGC GCC ATC GTG CCG GGC GTT AAA GTA CGG
      C   V   A   M   C   R   V   S   A   E   R   Y   S   A   I   V   P   G   V   K   V   R
 454  TCG AGC CGT GCA AAT GTG CAT CAC GAC TTG CCG TCC ACA CGC CTG GAG GAC GTG ATC GTT TTG GTG
      S   S   R   A   N   V   H   H   D   L   P   S   T   R   L   E   D   V   I   V   L   V
 520  TCG CCC ATT GGA CGC TCG ATC GAC GAA TGG CCG CCG GGG GAC GTG ATC GAC CGG AAC GGT TCG GAG
      S   P   I   G   R   S   I   D   E   W   P   P   G   D   V   I   D   R   N   G   S   E
 586  CTA TGAAACTCTCTGAACTCCAGGTGCCAGCCTGGAGTGACTGGGGTTGTGGCCGCAGAAGATCCGCAGCCGTGTATGACCTTTGACGA
      L   *
 672  TCTCCCAATCCACTTTGCACCTCGATTGTTGGCGCAACATTGGATGCCGGCGACGTTCTCGTAGACGGAGCCTGCGCCAAAGA
```

图 2　nodA 编码区的核苷酸序列

核苷酸序列下面的字母代表推测的 nodA 的氨基酸顺序,保守性结瘤盒以框表示,核苷酸序列上面的直线表示类似的 nodB 的序列。

Fig. 2　Nucleotide sequence of nodA region

The predicted amino acid sequence of nodA are given below the nucleotide sequence The consensus nod-box is shown as a box, nodB-like sequence are indicated with a line over the nucleotide sequence.

ORF2 与不同来源根瘤菌的 nodA 基因相比较其核苷酸序列及编码氨基酸顺序都显示出高度同源性(表 1)。据此,推定区域 I 中的 ORF2 为紫云英根瘤菌 159 的 nodA 基因。

在区域 II 中曾测定了 nodD 及 nod box 的核苷酸序列[3]。在 nod box 的下游找到有两个开放阅读框架。ORF1 从 1 位的起始密码子 ATG～696 位的终止密码子 TGA 共 696bp,编码 231 个氨基酸。在起始密码子 ATG 的上游−11～−8位有 GAGG 的 SD 序列。ORF2 从 710 位的起始密码子 ATG～2060 位的终止密码子 TAA 共 1350bp,编码 449 个氨基酸。同样在 ORF2 的 ATG 上游有明显的 SD 序列(图 3)。将区域 II 的 ORF1,ORF2 分别与不同来

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部　http://journals.im.ac.cn

源根瘤菌的 nodB,nodC 基因相比较,其核苷酸序列及编码氨基酸顺序显示高度同源性(表1)。据此,推定区域Ⅱ中的 ORF1,ORF2 分别为紫云英根瘤菌 159 的 nodB,nodC 基因。

```
                ←—— nodD1
-306  CAG GCG GTA GGT
                CCACCGAGCGGCGATCCATCGAGCGGATACCTCTCATCGAAACAAAGAATTTTACCAGCTTTGCTGAACGTCGCA
-222  TAGGGACCTTGCAAGGATGTAAGCCTGAAAATGAAACTTGGTGTTTTACGTTTGGTGACGAGCAGCATTTGCACGGGATGCTTACGG
-135  CGTCATCCCGGATGTTTATAGCGGTTAAGCTTCTCCGGTAATCTACGTCAACCACAACGCGTCGGCTCGACGCGACAAGCTCCCTAT
                                                                    -11
-48   CATTAGGCGCTTACCTCAAGAAAACACCAACAAATACGAGGTCTTTCCATG CGT TCT GAT GTG CGC TGG ACG TTG TGC
                                                          M  R  S  D  V  R  W  T  L  C
31    AGG GGC AAT GAG TCG CAA CAT GCT CAG CAT GTA GAA CTC TCG GGC TTT AAA CAG GAC ATC TGT ACA
      R  G  N  E  S  Q  H  A  Q  H  V  E  L  S  G  F  K  Q  D  I  C  T
97    CGG GTC GTC ACC GAA GAG CGC AGT GTT TAT CTG ACA TTT GAC GAC GGT CCG AAC CCG ATT TGG ACA
      R  V  V  T  E  E  R  S  V  Y  L  T  F  D  D  G  P  N  P  I  W  T
163   CCG GAG GTC CTC GAT TTG CTG GCG CAA CAT CGG GTA CCG GCG ACA TTC TTC GTG ATC GGT GCC GAG
      P  E  V  L  D  L  L  A  Q  H  R  V  P  A  T  F  F  V  I  G  A  E
229   GCT GTA GAC CAA CCG GAA CTT ATC CGC CGA ATG ATT GCA GAT GGG CAC GAA GTA GCC AAT CAC ACG
      A  V  D  Q  P  E  L  I  R  R  M  I  A  D  G  H  E  V  A  N  H  T
295   ATG ACT CAT CCG GAT CTC TTC GAA TGC GAA CTG GGC GAA GTC GAA TGT GAA ATA GCT GGG GCG AGC
      M  T  H  P  D  L  F  E  C  E  L  G  E  V  E  C  E  I  A  G  A  S
361   AGA GCC ATC CGG TTG TCG TGT CCA GAG GCC ACG GTA CGG CAC TTT CGA GCC CCG TAT GGG AGC TGG
      R  A  I  R  L  S  C  P  E  A  T  V  R  H  F  R  A  P  Y  G  S  W
427   ACC GAA GAA GTT CTC GCT ACG TCG GCG AGT GCT GGA TTG GCC GCC CTG CAT TGG TCA GTT GAT CCA
      T  E  E  V  L  A  T  S  A  S  A  G  L  A  A  L  H  W  S  V  D  P
493   CGA GAC TGG TCT CGA CCC GGC GCC GAT TCG ATT GTC GAT GCG GTA CTC GCC GGC CTC CGA CCG GGT
      R  D  W  S  R  P  G  A  D  S  I  V  D  A  V  L  A  G  L  R  P  G
559   GCA ATT GTC GTC TTG CAC GAT GGG TGC GAG CGC AAC CAC ACC GAG CCA CGC GAC CAG ACA ATT ACG
      A  I  V  V  L  H  D  G  C  E  R  N  H  T  E  P  R  D  Q  T  I  T
625   GCG CTG TCC CAC CTG ATT CCA TCG TTG CAT GAC CGC GGA TTC GTA GTC CGA TCC CTT CCT CAA CAT
      A  L  S  H  L  I  P  S  L  H  D  R  G  F  V  V  R  S  L  P  Q  H
691   CAT TGAGCAAAGAGATCTTATG GAC CTG CTC GCC ACA GTC AGT ACT GTC GCC ATT TCG TGT TAT GCG CTG
      H  •  .....  M  D  L  L  A  T  V  S  T  V  A  I  S  C  Y  A  L
761   CTC TCT GCT GTT TAT AAA GGC ACG CAA GCC GTA TAC GCG CAG CCG TCT ACA ATT ACG TCG ATG TCA
      L  S  A  V  Y  K  G  T  Q  A  V  Y  A  Q  P  S  T  I  T  S  M  S
827   GAC GAC TTA CTT GGA TCA GAC CTT TGG CCG AGT GTG GAT GTA ATT ATC CCC TGC TAC AAC GAG AAT
      D  D  L  L  G  S  D  L  W  P  S  V  D  V  I  I  P  C  Y  N  E  N
893   CCG CGG ACG CTC TCG GCG TGT CTA GCT TCC GTT GCG ACT CAG GAA TAT GCT GGG GAC CTG CAT GTC
      P  R  T  L  S  A  C  L  A  S  V  A  T  Q  E  Y  A  G  D  L  H  V
959   TAC GTG GTT GAT GAC GGT TCC GGA AAT CGC GAT ACC CTC GTA CCA GTT CAT CAT GCC TAC GTC GAC
      Y  V  V  D  D  G  S  G  N  R  D  T  L  V  P  V  H  H  A  Y  V  D
1025  GAC CCG AGG TTC ACG TTC ATT CAG CTC GGC AAG AAT GTT GGC AAA CGC AAG GCA CAG ATC GCC GCG
      D  P  R  F  T  F  I  Q  L  G  K  N  V  G  K  R  K  A  Q  I  A  A
1091  ATC CGC ATC TCG TCC GGA GAT TTC GTA CTC AGC GTC GAC TCC GAC ACG ACA CTT GAG CCC GAG GTC
      I  R  I  S  S  G  D  F  V  L  S  V  D  S  D  T  T  L  E  P  E  V
1157  GTG ACC AAG CTT ACG GAA AGG ATG CGC GAT CCA GCG ATC GGC GCG GCT ATG GGC CAG TTG GTG GCA
      V  T  K  L  T  E  R  M  R  D  P  A  I  G  A  A  M  G  Q  L  V  A
1223  TCC AAC CGG ACC GAC TCT TGG TTG ACC CGA TTG ATC GAC ATG GAG TAC TGG CTT GCC TGC AAT GAG
      S  N  R  T  D  S  W  L  T  R  L  I  D  M  E  Y  W  L  A  C  N  E
1289  GAG CGC GCG GCC GAG GCT CGT TTT GGT GCG GTC ATG TGC TGT TGC GGC CCT TGT GCA ATG TAC CGT
      E  R  A  A  E  A  R  F  G  A  V  M  C  C  C  G  P  C  A  M  Y  R
```

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

```
1355  CGG TCT TCT CTT CTT TCG CTG CTA GAT CAA TAC GAG ACA CAG CTG TTT CGG GGC AAG CCA AGC GAC
      R  S  S  L  L  S  L  L  D  Q  Y  E  T  Q  L  F  R  G  K  P  S  D
1421  TTC GGC GAG GAT CGC CAT CTC ACG ATC CTG ATG TTG AAA GCA GGT TTC CGA ACC GAG TAC GTT CCA
      F  G  E  D  R  H  L  T  I  L  M  L  K  A  G  F  R  T  E  Y  V  P
1487  GAG GCG GTC GCA GCA ACA GTC GTT CCA GAT TCG CTG CAG GCC TAT CTG CGC CAA CAG CTG CGC TGG
      E  A  V  A  A  T  V  V  P  D  S  L  Q  A  Y  L  R  Q  Q  L  R  W
1553  GCA CGG AGC ACA TTC CGC GAC ACC CTG CTT GCG CTG CGC CTG CTG CCA AGC CTG GAT CGC TAT CTC
      A  R  S  T  F  R  D  T  L  L  A  L  R  L  L  P  S  L  D  R  Y  L
1619  ACG CTA GAT GTG ATT GGA CAG AAC CTC GGT CCA TTG TTG CTC GCC ATC GCT GTA CTA GCC GGG CTT
      T  L  D  V  I  G  Q  N  L  G  P  L  L  L  A  I  A  V  L  A  G  L
1685  GCG GAA CTC GTG CTG ACA AAT AAC GCG CCT TGG CCA ACA GCG ACT ATT ATT GCC GGT ATG ACC GTA
      A  E  L  V  L  T  N  N  A  P  W  P  T  A  T  I  I  A  G  M  T  V
1751  ATT CGA TGC GCG GTG ATT GCC TTT CGT GCG CAC CAA CTT CGG TTT TTG GGC TTT GCT GTG CAC ACG
      I  R  C  A  V  I  A  F  R  A  H  Q  L  R  F  L  G  F  A  V  H  T
1817  TTC ATC AAC ATA TTC CTT CTA CAC CCC CTC AAA GGG TAT GCT TTG TGC ACA TTG AGC AAT AGT GAT
      F  I  N  I  F  L  L  H  P  L  K  G  Y  A  L  C  T  L  S  N  S  D
1883  TGG TTG TCG CGT AAA AGT GTT AGC GTG CCC CCC GAA GGC AAA AAG CCG ATC ATC ATT GCG AAT CCG
      W  L  S  R  K  S  V  S  V  P  P  E  G  K  K  P  I  I  I  A  N  P
1949  ATC GGG AGG CCA ACA GTC AGT TCG GTG AGT GGG GAG TCA CAT CAT ACG ACC GGT CGT TCG CGC GCC
      I  G  R  P  T  V  S  S  V  S  G  E  S  H  H  T  T  G  R  S  R  A
2015  CCT TCC CGA CTG GCT AGG TCT GAC AGC GTT CAC AGC GCC GAC TAATCGAGTATGGTTGGCATTTGGGCGGGAG
      P  S  R  L  A  R  S  D  S  V  H  S  A  D  *
2088  GCTTCAGGGCTGTCCTTTTTGTACACGGACCAGCTCAAAGCCGGCCAGTCTGATCCAGAATCGAAAGTAAGCTACCGGTTAG
```

图 3　nodBC 编码区的核苷酸序列

核苷酸序列下面的字母代表推测的 nodBC 的氨基酸顺序，保守性结瘤盒以框表示，

核苷酸序列上面的直线表示类似 nodA 的序列。

Fig. 3　Nucleotide sequence of nodBC region

The predicated amino acid sequence of nodBC are given below the nucleotide sequence. The consensus nod-box is shown as a box, nodA-like sequence are indicated with a line over the nucleotide sequence.

2.3　nodA 基因与 nodBC 基因分属二个不同的转录单位

许多研究报告表明，各种不同来源的根瘤菌 nodABC 基因形成一个转录单位（菜豆根瘤菌例外[4]）。而根据对克隆 pRaN109 NDA 限制性内切酶酶解分析及核苷酸序列测定的结果计算出紫云英根瘤菌 nodA 基因与 nodBC 基因相距 6.7kb。在 nodA 基因和 nodBC 基因的上游存在有结瘤调节基因产物 NodD 蛋白的专一性结合位点，即 47bp 保守性结瘤盒（nod box）。从结瘤盒到 nodA 及 nodB 基因的起始密码子各自为 103bp 及 237bp。表明紫云英根瘤菌 nodA 和 nodBC 基因分属不同的转录单位。

值得注意的是在区域 II nodB 基因编码起始区的 120bp 片段（1～120 位）与区域 I nodA 基因编码起始区的 120bp（1～120）高度同源。同源程度达 61%。我们称区域 II 中这段 120bp 片段为 nodA-like 片段。在区域 I nodA 基因下游 107bp 片段（638～744 位）与区域 II 中 nodB 基因编码区的 109bp（114～222 位）有高度同源，同源程度为 68%（图 4）。我们称区域 I 中 nodA 基因下游的这段 107bp 片段为 nodB-like片段。根据上述结果推测，紫云英根瘤菌中共同结瘤基因 nodA 和 nodBC 基因不同的排列结构，可能是 NDA 重排的结果。

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部　http://journals.im.ac.cn

表1 不同根瘤菌中NodA, NodB, NodC同源性比较

Table 1 NodABC identities between different species

菌株 Strain	与紫云英根瘤菌159同源百分数 Identity (%) with *Rhuakuii* 159		
	NodA	NodB	NodC
R .meliloti	59	58	64
R .leguminosarum bv.*phaseoli*	60	58	54
R. leguminosarum pRL 1J1	73	69	69
R.loti	66	–	65
R.fredii	65	65	69
A.caulinodans	55	41	52
*R.sp.*NGR 234	57	66	70
R.huakuii 159	100	100	100

注: 1.NodABC多肽顺序基因库: M73699, M58625, Y00548, M81825, P24154, P24150, P24151, M58626, L06241.

2.–未测

Note:1.The NodABC peptied sequences were obtained from Genbank: M73699,M58625, Y00548, M81825, P24154, P24150, P24151, M58626, L06241.

2.–Not determined.

A

```
ATGCGCTCAGCCGTGCAGTGGAGATTGTGCTGGGAAAATGACCTGCAACTGACCGACCAT    60 nodA
***** ** *  **** *****  ******* ***  *****   *****   *  * ***
ATGCGTTCTGATGTGCGGTGGACGTTGTGCAGGGGCAATGAGTCGCAACATGCTCAGCAT    60  nodA-like

GTCGAACTCTCCGACTTCTTCCGAAAGATCTATGGCCGAATTGGGAGCTTCGA-CGCAAAG  120  nodA
** ********* * ***   *   * **** *   **  * *  * *   ** ****
GTAGAACTCTCGGGCTTTAAACAGGACATCTGTACACGGGTCGTCACCGAAGAGCGCAGT   120  nodA-like
```

B

```
GCGCAGTGTTT---------ATCTGACATTTGACGACGGTCCGAACCCGATTTGGACACCGGA  58  nodB
******    *          * **** ********   *** ** **  **** **
GCGCAGAAGATCGCAGCGTGTATGACCTTTGACGA-TCTCCCAATCCACTTTGCAC------  55  nodB-like

GGTCCTCGAAT-TTGGCGCAACATCGGGTACC-GCGACATTCTTCGTGATCGGTGCC      109  nodB
    ***** * ************ ** * ** ***** **** ***   *** ***
----CTCGATTGTTGGCGCAACATTGGATGCCGGCGACGTTCT-CGTAGACGGAGCC      170  nodB-like
```

图4 区域I和区域II中核苷酸序列的同源性比较

A.nodA 与类似 nodA 序列的同源性

B.nodB 与类似 nodB 序列的同源性

Fig. 4 Nucleotide sequence identities in region I and II

A. Identitise between nodA and nodA-like sequence.

B.Identities between nodB and nodB-lile sequence.

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

致谢　承沈善炯先生对本工作的指导，特此致谢。

参　考　文　献

[1] Van Rhiji P, JosVanderleyden. *Microbiological Reviews*, 1995, **59** (1):124～142.

[2] Maniatis T, Fritsch E F, Sambrook J. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1982.

[3] 沈思师，金润之。科学通报，1995，**40** (15)：1409～1412.

[4] Vazquez M, Davalos A, de las Penas A. *J. Bacteriol*, 1991, **173**:1250～1258.

NUCLEOTIDE SEQUENCE OF THE *RHIZOBIUM HUAKUII* COMMON NODUTION GENES nodA AND nodBC

Shen Sishi　Gong Lan　Jin Runzhi

(*Shanghai Institute of Plant Physiology, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai* 200032)

Abstract　An another clone pRaN109 which contains nod genes was isolated and identified from the clone bank of *R. huakuii* 159 DNA using the ^{32}P-labeled 2.3kb *R. meliloti nod* DNA fragment as a hybridization probe. Analysis of homologous DNA-DNA hybridization and nucleotide sequence indicated that the 9kb EcoRI fragment of pRaN109 DNA carried the nodD_1BC genes and the 18kb EcoRI fragment of pRaN109 DNA contained nodD_2A genes. The common nodA gene was separated by 6.7kb from the nodBC genes. Both the nodA and bodB-nodC cistrons showed nod box upstream of these genes. Nucleotide sequence analysis of the genes describes a obviously different organization of common nod genes in *R. huakuii* 159 compared with that reported for most of the strains from different genera described up to now.

Key words　*Rhizobium huakuii*, Common nod genes, Nucleotide sequence

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部　http://journals.im.ac.cn