

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
49(11): 1470–1476; 4 November 2009
ISSN 0001–6209; CN 11–1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

集胞藻 PCC6803 *EGY* 同源基因破坏突变体的构建及表型分析

钟罗宝, 陈谷*, 任丹丹

(华南理工大学轻工与食品学院, 广州 510641)

摘要: 拟南芥中近来发现的定位于叶绿体的膜嵌合金属蛋白酶 EGY1 影响叶绿体发育与脂肪酸合成, 经生物信息学分析, 集胞藻 PCC6803 (*Synechocystis* sp. PCC6803) 中 *slr0643*、*sll0862* 基因编码同源蛋白。【目的】为了鉴定这两个基因的功能, 【方法】本文通过同源重组插入卡那霉素抗性基因、切断目的基因, 分别构建了 *slr0643::km* 和 *sll0862::km* 两种突变体, 检测突变体的生理生化表型。【结果】在 30°C, 20 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ 自培养下, *slr0643::km* 与野生型相比, 早期生长速率相近, 但 77K 叶绿素荧光显示, 光合系统 I 含量降低, 光合系统 I 与 II 的比率明显降低, 光合电子传递链的全链速率仅为野生型的 83%。电镜结果显示胞内膜系统完好。*sll0862::km* 的形态、生长速率、光合系统 I 与 II 的比率以及内膜结构均与野生型无明显差异。【结论】可见在本实验条件下, 生长早期, 两个基因的功能有所不同, *slr0643* 参与了光合系统的合成及光合作用的精细调控, 而 *sll0862* 并不直接影响光合系统功能。研究结果为进一步阐明不同条件下集胞藻 PCC6803 中 *EGY* 基因家族各个成员的功能和作用机理奠定了基础。

关键词: 集胞藻 PCC6803; 蛋白酶 EGY1; 同源基因; *slr0643*; *sll0862*; 突变体; 77K 荧光

中图分类号: Q933 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2009) 11-1470-07

最近在模式植物拟南芥中发现一个定位于叶绿体的膜嵌合金属蛋白酶 EGY1, 它影响叶绿体发育与脂肪酸合成^[1], 同时还通过下胚轴内皮层的质体影响乙烯诱导的下胚轴向地性^[2], 但是它的直接酶切底物是什么、如何通过底物参与调控仍然是个谜。结构分析显示 EGY1 蛋白与蛋白酶 M50 有类似的结构和功能域, 含有多个疏水跨膜区域、以及 M50 蛋白酶特有的 His-Glu-X-X-His (HEXXH) 和 Asp-Gly (DG) 功能域^[3]。M50 蛋白酶中研究较为详细的成员有来自哺乳动物的 S2P、来自杆菌的 SpolVFB 和大肠杆菌的 RseP^[4-7]。它们均是膜嵌合金属蛋白酶, 所催化的剪切发生在膜内或非常接近膜; 通过在膜蛋白水解 (intramembrane proteolysis) 转录调控因子前体、释放转录调控因子来调控下游基因表达, 参与胆固醇代谢、孢子发生等对抗胞外逆境反应^[8-9]。

目前在水稻、棉花、菜豆和多种蓝藻中均找到 EGY 同源蛋白, 但功能未知。作为叶绿体的先祖, 蓝藻的光合作用与植物有相近之处^[10]。一些同源蛋白的功能相近, 如最初在拟南芥中研究的蛋白酶 FtsH 在集胞藻 6803 中有同源蛋白, 其功能与植物的 FtsH 类似, 在修复强光下的 PS II、清除受损的 D1 蛋白起关键作用^[11], 还参与修复 UV-B 紫外辐射破坏的 PS II, 降解受损的 D1、D2 反应中心亚基^[12]。在已有序列公布的蓝藻基因组, 如 *Anabaena* sp. PCC7120、*Synechocystis* sp. PCC6803、*Synechococcus elongatus* PCC6301 和 *Thermosynechococcus elongatus* BP-1 等均找到编码 EGY 同源蛋白的基因, 暗示着 EGY 家族成员在蓝藻中可能有重要而保守的功能。本研究首次在蓝藻-集胞藻 PCC6803 中研究 EGY 同源基因 *slr0643*、*sll0862*, 通过打断基因获得突变体,

基金项目: 国家自然科学基金 (30800609)

* 通信作者。 Fax: +86-20-87113849; E-mail: chengu@scut.edu.cn

作者简介: 钟罗宝 (1084-), 男, 江西人, 硕士研究生, 主要从事蓝细菌分子生物学研究。 E-mail: hiablen@163.com

收稿日期: 2009-06-18; 修回日期: 2009-08-28

研究其性状,为探讨该基因家族成员在蓝藻中的功能和作用机理奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要材料:集胞藻 PCC6803 购自 ATCC。

1.1.2 主要试剂和仪器:大肠杆菌 (*Escherichia coli*) DH5 α 和生化试剂购自普博欣生物科技有限公司。pUC118 质粒和各种酶购自宝生物工程公司。PCR 仪 iCycle(美国 BIO-RAD 公司),紫外分光光度计 UV2300(上海天美科学仪器有限公司),低温荧光分光光度计 LS-55(美国 PerkinElmer 公司),Clark 氧电极 Oxylab2(英国 Hansatech 公司),透射电镜 JEM-100CX- II(日本 JEOL 公司)。

1.2 培养方法

集胞藻 PCC6803 培养于 BG-11^[13],置 30 $^{\circ}$ C, 20

μ E/m 2 ·s 连续光照, 140 r/min 摇瓶培养。平板筛选培养突变株时,添加 0.3% 硫代硫酸钠、8 mmol/L TES(pH 8.2)、1.5% 琼脂和 50 μ g/mL 卡那霉素。DH5 α 于 LB 培养基 37 $^{\circ}$ C 培养。

1.3 定向插入失活质粒的构建

以 0643F 和 0643R, 0862F 和 0862R 为引物从集胞藻 PCC6803 基因组 DNA 中分别扩增得到 *sr0643* 和 *sl0862*, 经 *Eco*R I 和 *Hind* III 酶切后与用同样酶切割的 pUC118 连接, 分别得到 p0643 和 p0862。以 k643F 和 k643R, k862F 和 k862R 为引物从 pCambia1301 质粒中扩增 *km^r* 基因, 并分别引入酶切位点 *Nco* I 和 *Nhe* I; 所得 *km^r* 片段分别经 *Nco* I 和 *Nhe* I 酶切, 与同样酶切过的 p0643、p0862 连接得到 pK0643 和 pK0862 质粒(图 1)。所构建的质粒均经测序证实构建正确。所用引物详见表 1。

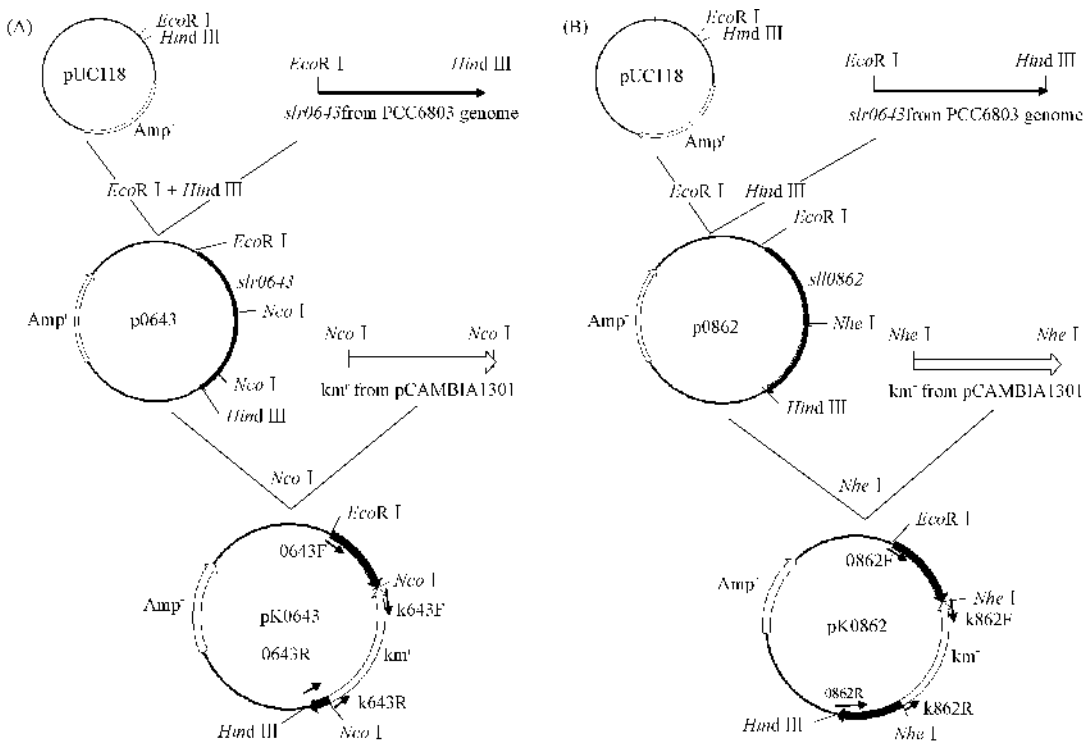


图 1 质粒 pK0643 和 pK0862 构建流程图

Fig. 1 Flow charts showing the construction process of pK0643 and pK0862. Construction of pK0643 are shown in A and pK0862 in B. Locations of the primers used in PCR identification are shown in small arrows around pK0643 and pK0862.

1.4 集胞藻转化及突变株筛选和鉴定

用质粒 pK0643 和 pK0862 转化野生型集胞藻^[14]。转化子在含有 10 μ g/mL 卡那霉素(Km)的 BG11 平板中长出后,转到含有 10 μ g/mL Km 的液体培养基中传代培养,并逐步提高 Km 浓度至

50 μ g/mL。传代 3~4 次后,PCR 鉴定 *km^r* 基因的插入,直至所有野生型拷贝完全消失。

1.5 生长曲线测定

接种初始 OD_{730} 为 0.05,每两天取样用 UV2300 型分光光度计测定 730 nm 下的吸光值,绘制生长曲线。

表 1 引物序列

Table 1 Sequence of primers

Name	Sequence of primer(5'→3')
0643F	CCGGAATTCATCTGGCTTCTTTTGC
0643R	CCCAAGCTTCTATATTTCCAACCAC
0862F	CCGGAATTCATGCCACTACCTAG
0862R	CCCAAGCTTTTAACCGCCAATGCCT
k643F	AAACCATGGACGCTCACTGGAACGAAA
k643R	AAACCATGGTACAGGCAGCCATCAGT
k862F	CTAGCTAGCACGCTCAGTGAACGAAA
k862R	CTAGCTAGCTACAGGCAGCCATCAGT

1.6 全细胞吸收光谱、77K 荧光发射光谱和光合电子传递链的测定

调整待测样品到相同的 OD_{730} 后,用 UV2300 分光光度计扫描藻细胞吸收光谱,扫描范围为 400 nm ~ 750 nm。

用 LS-55 型荧光分光光度计,在液氮温度 (77 K) 下测定藻细胞的低温荧光发射光谱。窄缝宽度为 10 nm,435 nm 激发叶绿素荧光,收集 500 nm ~ 795 nm 的发射荧光,测量时调整叶绿素含量为 3 μg 。

在 1000 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ 时利用 Clark 氧电极测量光合电子传递链的速率,全链的电子传递链在 10 mmol/L 的 NaHCO_3 下测定,PSII 的电子传递链活性在 1 mmol/L $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 和 0.5 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 2,6-dichloro-*p*-benzoquinone 中测定。

1.7 电镜观察细胞形态

取 OD_{730} 约为 1 的野生型和突变体离心,藻泥用 3% 的戊二醛 4℃ 固定过夜,用 1% 锇酸室温再固定 1 h,随后用一系列浓度递增的乙醇溶液脱水并用 spur 树脂包埋聚合。切取超薄切片用 JEM-100CX-II 型透射电镜观察细胞结构并拍照。观察类囊体膜层数时野生型和各突变体分别观察超过 100 个细胞并计数。

2 结果

2.1 突变体的构建和筛选

在体外分别构建了 km^r 基因嵌入 *slr0643*、*sll0862* 编码基因的质粒 pK0643 和 pK0862(图 1),将它们自然转化到集胞藻 PCC6803,经固体及液体培养基反复传代培养纯化,分离得到两种突变体 *slr0643::km* 和 *sll0862::km*。利用 PCR 检测基因分离情况,以 km^r 基因两端引物 PCR 时,传代培养 2 次和 3 次的 *slr0643::km* 与传代 3 次和 4 次的 *sll0862::km* 分别都扩增出清晰的与 km^r 基因大小相同的片段;而野生型扩增出模糊的片段(图 2)。

由于实验证明野生型不能在含卡那霉素的培养基上生长,因此推断野生型扩增出的是非特异性片段。以 0643F 和 0643R,0862F 和 0862R 分别为引物进行扩增,由于嵌入 km^r 基因,突变基因比野生型基因片段大(图 1)。其中传代 2 次的 *slr0643::km* 除明显的突变基因大片段外,还有一条模糊的野生型基因大小的条带,说明还有野生型基因拷贝存在,分离尚未完全(图 2)。而其它的 *slr0643::km* 和 *sll0862::km* 均只得到相应的大片段,表明突变基因已完全替代野生型基因,得到分离完全的 *slr0643::km* 和 *sll0862::km* 突变株。

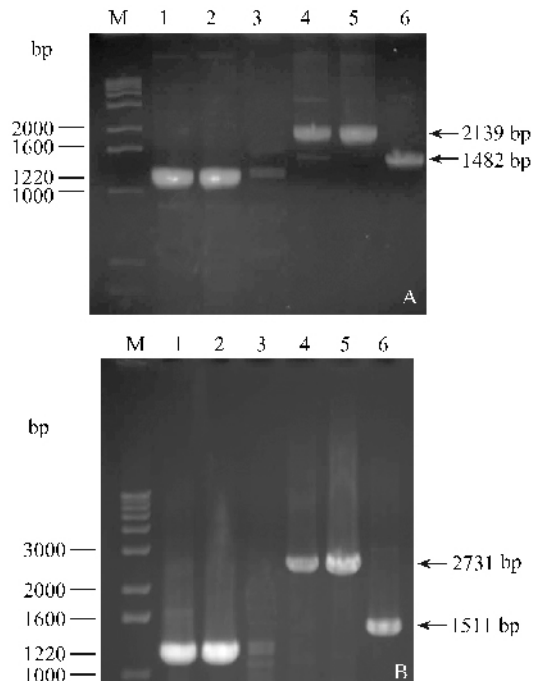


图 2 PCR 检测突变株的基因敲除情况

Fig.2 PCR detections of integrations. A: PCR detections of homologous integration in *slr0643::km*. Primers k643F and k643R were used in lanes 1-3, and primers 0643F and 0643R were used in lanes 4-6. The DNA templates were from mutant lines after cultivation with 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ kanamycin for two (lane 1,4) or three rounds (lane 2 and 5), or wild type (lane 3 and 6). Lane M is the 1kb DNA ladder. B: PCR detections of homologous integration in *sll0862::km*. Primers k862F and k862R were used in lanes 1-3, and primers 0862F and 0862R were used in lanes 4-6. The DNA templates were from mutant lines after cultivation with 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ kanamycin for three (lane 1,4) or four rounds (lane 2 and 5), or wild type (lane 3 and 6). Lane M is the 1kb DNA ladder.

2.2 突变体表型分析

2.2.1 生长曲线:为检测 *slr0643*、*sll0862* 基因的破坏是否影响藻体的生长,将 *slr0643::km* 和 *sll0862::km* 置 30℃,20 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ 下自养生长,以野生型为对照,重复 3 次,绘制生长曲线。结果显示

(图 3), 在 10 d 内, 突变体和野生型具有相似的生长模式, 表明在本实验条件下, *slr0643* 或 *slI0862* 基因的破坏并不影响藻体的早期生长。

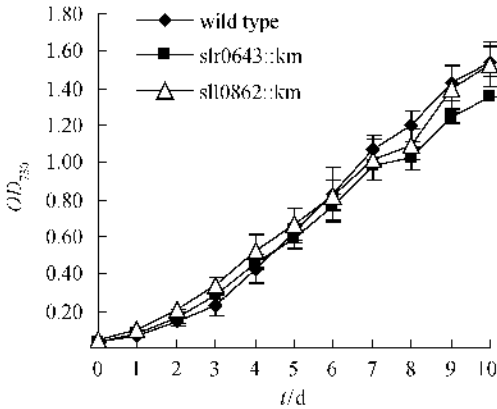


图 3 突变体 *slr0643::km*、*slI0862::km* 和野生型的生长曲线

Fig.3 The growth curve of *slr0643::km*, *slI0862::km* and wild type.

2.2.2 全细胞吸收光谱: 取 OD_{730} 约为 1 的藻体做全细胞吸收光谱, 结果显示(图 4), 在分别代表叶绿素 a(Chla)、藻蓝蛋白(PC)、类胡萝卜素和叶绿素 a 的吸收峰 678 nm ~ 680 nm、620 nm ~ 630 nm、490 nm 和 430 nm 各处, *slr0643::km* 和 *slI0862::km* 与野生型无显著差异 ($P > 0.05$), 藻蓝蛋白与叶绿素比值(PC/Chla)也没有显著性差别 ($P > 0.05$), 因此可以推断藻胆体与光合系统的比例没有发生明显变化。同时测定突变体的叶绿素含量, 发现与野生型没有明显区别(数据未显示)。

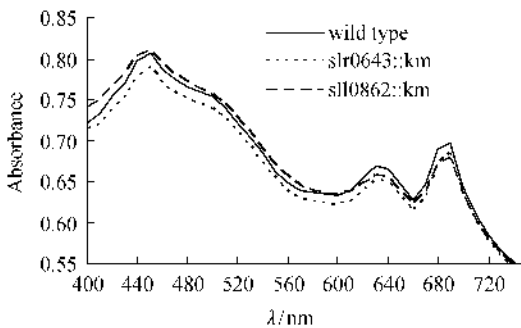


图 4 突变体 *slr0643::km*、*slI0862::km* 和野生型的全细胞吸收光谱

Fig.4 Whole cell absorbance spectra of wild type and *slr0643::km*, *slI0862::km*.

2.2.3 77 K 荧光发射光谱: 拟南芥中的研究提示, EGY1 参与光合系统的组装^[1], 为检测 *slr0643*、*slI0862* 基因的破坏是否影响光合系统的组装, 我们测定了 OD_{730} 为 1 时 *slr0643::km* 和 *slI0862::km* 的

77K 叶绿素荧光发射光谱。435 nm 光激发下, 685 nm ~ 695 nm 处的荧光峰主要源于光合作用系统 II(PSII), 而 725 nm ~ 730 nm 处的荧光峰主要源于光合作用系统 I(PSI), 两处的荧光比值(F695/F725)可以体现 PSI 和 PSII 的相对含量。结果显示(图 5), *slr0643::km* 的 PSI 含量明显比野生型少 ($P < 0.05$) 而 PSII 含量无明显差异; 而 *slI0862::km* 的 PSI 和 PSII 含量与野生型比没有显著差异。提示在此生长状态下, *slr0643* 基因的破坏导致 PSI 的组装减少, 而对 PSII 影响不大; *slI0862* 基因的破坏没有对 PSI 和 PSII 的组装有直接影响。

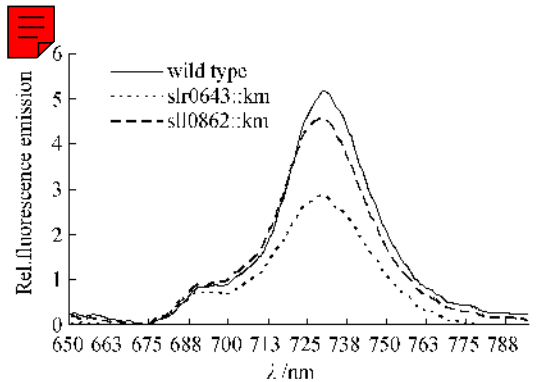


图 5 突变体 *slr0643::km*、*slI0862::km* 和野生型的 77K 荧光发射光谱

Fig.5 77K fluorescence emission spectra of wild type and mutants. The same number of cells was excited at 435 nm and the spectra were normalized to 570 nm.

2.3.4 光合放氧速率: 测量突变体和野生型的光合电子传递链的速率, 结果表明, *slr0643::km* 的光合电子传递受阻, 全链只有野生型的 83%, PSII 的光合电子传递能力比野生型稍低, 但无显著差异(表 2)。 *slI0862::km* 的全链与 PSII 光合电子传递速率比野生型略高, 但差异不显著。PSI 的电子传递能力有待进一步测定。

表 2 野生型和突变体的光合作用电子传递效率

Table 2 Rates of photosynthetic electron transfer reactions measured with intact cells

strain	Rates [$\mu\text{molO}_2/\text{mg Chla}/\text{h}$]	
	PSII($[\text{H}_2\text{O}:\text{DCBQ}/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$)	Whole chain($\text{H}_2\text{O}:\text{CO}_2$)
wild type	212.81 ± 9.83	213.35 ± 13.35
<i>slr0643::km</i>	194.21 ± 1.37	177.95 ± 19.25*
<i>slI0862::km</i>	228.12 ± 24.68	230.59 ± 8.48

* Indicate significant difference between mutant and wild type.

2.3.5 细胞的显微结构: 收集 OD_{730} 约为 1 左右的 *slr0643::km*、*slI0862::km* 和野生型细胞进行超薄切

片及电镜观察,结果显示突变株的细胞结构和野生型没有差别,细胞外膜、质膜和胞内的内囊体膜结构均清晰整齐(图6)。表明此时 *slr0643*、*sll0862* 基因

的破坏未影响光合作用的主要场所-内囊体膜的结构完整。电镜下观察类囊体膜层数,大部分野生型和突变体均为6到8层,无显著差异(图7)。

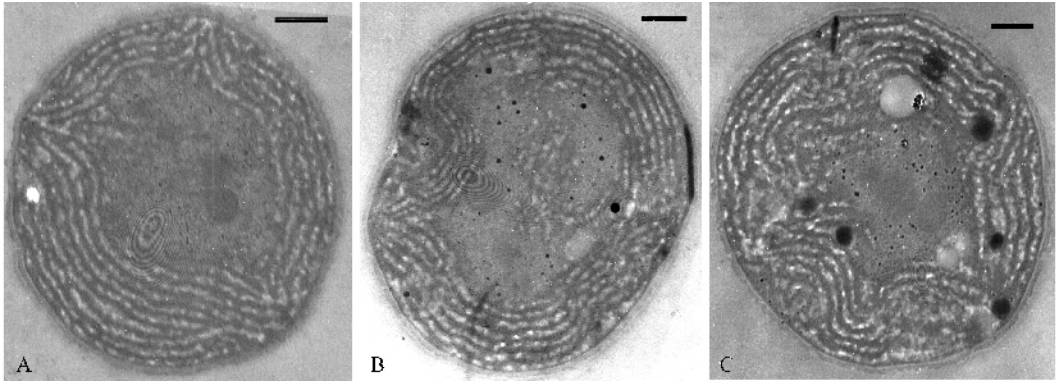


图6 突变体的显微结构

Fig.6 Electron micrographs of of wild type and mutants. Ultrastructure of wild type (A), *slr0643::km* (B) and *sll0862::km* (C) are shown by electron micrographs. Bars represent 0.25 μm .

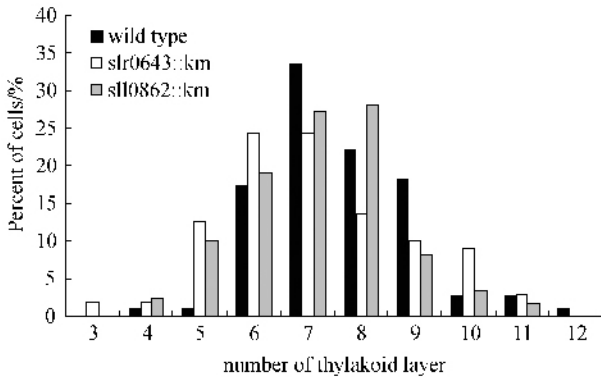


Fig.7 Electron micrographs of of wild type and mutants. The distribution of number of thylakoid membranes layers under the presented growth conditions.

3 讨论

拟南芥中的金属蛋白酶 EGY1 定位于叶绿体,影响叶绿体发育与脂肪酸合成,集胞藻 PCC6803 中 *slr0643* 和 *sll0862* 编码的蛋白分别与 EGY1 有 58% 和 55% 的相似度,并含有 HEXXH 和 DG 功能域^[3]。我们通过定点插入失活构建了 *slr0643::km* 和 *sll0862::km* 两种基因破坏突变体来研究 *slr0643* 和 *sll0862* 在集胞藻 6803 中的功能。

在 30°C, 20 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ 自养培养下, *slr0643::km* 与野生型相比,虽然早期(10 天内)生长速率、胞内色素含量无差异,光合作用的主要场所-内囊体膜的结构完整,但 77 K 荧光结果提示 PSI 含量降低,氧电极测得的全链光合电子传递速率降低,仅为野生

型的 83%;表明 *slr0643* 基因编码产物参与光合系统的组装但不影响内囊体膜的生成。蓝藻体内,光合作用的能量传递依赖于 PSI 和 PSII 之间的协调配合, *slr0643::km* 的 PSI 的数量减少,虽然 PSII 变化不大,但造成电子传递的效率降低,影响光合作用整体效率(表 2)。徐旭东的研究小组最近报道在铜离子调控的 *Vipp1* 突变体中,控制 *Vipp1* 表达量,可以检测到光合系统活性丧失而内囊体膜完整的现象^[15]。拟南芥中 EGY1 蛋白的缺失导致光收集系统的叶绿素结合蛋白的明显下降^[1],集胞藻中是否有类似现象有待进一步研究。正常情况下,集胞藻 PCC6803 约 80% 的叶绿素是结合在 PSI 上^[16],但本研究发现 *slr0643::km* 中 PSI 的含量降低并没有同时检测到叶绿素含量的减少,推测可能是 *slr0643::km* 中 PSI 不稳定,导致较多的叶绿素呈现游离状态。在集胞藻 PCC6803 的 *Vipp1* 减少的不完全突变体中就观察到 PSI 含量显著降低,同时游离的叶绿素增加^[17]。真实情况有待进一步的实验。

另一个突变体 *sll0862::km* 在本实验条件下所测的各项指标均与野生型无明显差异,并不说明 *sll0862* 基因与光合系统组装无关,可能是该基因编码产物在特定条件下起作用,如高光强、高温、盐胁迫等,所以进一步的不同培养条件下的突变体和野生型生理生化表型分析将揭开 *sll0862* 的功能。

基于同源性分析,与 EGY1 有相同结构域的一系列金属蛋白酶,如哺乳动物的 S2P、来自杆菌的

SpoIVFB 和大肠杆菌的 RseP, 均通过切割底物-转录调控因子, 释放有活性的调控因子来参与对抗胞外逆境的反应。集胞藻中 *slr0643*、*slr0862* 基因很可能同样参与对抗逆境的反应, 如高光强、UV、盐胁迫等。它们是否具有蛋白酶活性、底物是什么, 我们的后续研究将试图解答这些问题。

参考文献

- [1] Chen G, Bi YR, Li N. EGY1 encodes a membrane-associated and ATP-independent metalloprotease that is required for chloroplast development. *Plant Journal*, 2005, 41(3):364 – 375.
- [2] Guo D, Gao XR, Li H, et al. EGY1 plays a role in regulation of endodermal plastid size and number that are involved in ethylene-dependent gravitropism of light-grown *Arabidopsis* hypocotyls. *Plant Molecular Biology*, 2008, 66(4):345 – 360.
- [3] Rawson RB. S2P protease. In: Barrett AJ, Rawlings, N.D. & Woessner, J.F., ed. *Handbook of Proteolytic Enzymes*. 2 edn ed. London: Elsevier, 2004:985 – 988.
- [4] Zelenski NG, Rawson RB, Brown MS, et al. Membrane topology of S2P, a protein required for intramembranous cleavage of sterol regulatory element-binding proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274(31):21973 – 21980.
- [5] Green DH, Cutting SM. Membrane topology of the *Bacillus subtilis* pro-sigma (K) processing complex. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(2):278 – 285.
- [6] Kanehara K, Ito K, Akiyama Y. YaeL (EcfE) activates the sigma(E) pathway of stress response through a site-2 cleavage of anti-sigma(E), RseA. *Genes Development*, 2002, 16(16):2147 – 2155.
- [7] Alba BM, Leeds JA, Onufryk C, et al. DegS and YaeL participate sequentially in the cleavage of RseA to activate the sigma(E)-dependent extracytoplasmic stress response. *Genes Development*, 2002, 16(16):2156 – 2168.
- [8] Kinch LN, Ginalski K, Grishin NV. Site-2 protease regulated intramembrane proteolysis: Sequence homologs suggest an ancient signaling cascade. *Protein Science*, 2006, 15(1):84 – 93.
- [9] Weihofen A, Martoglio B. Intramembrane-cleaving proteases: controlled liberation of proteins and bioactive peptides. *Trends in Cell Biology*, 2003, 13(2):71 – 78.
- [10] Martin W, Rujan T, Richly E, et al. Evolutionary analysis of *Arabidopsis*, cyanobacterial, and chloroplast genomes reveals plastid phylogeny and thousands of cyanobacterial genes in the nucleus. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*, 17 2002;99(19):12246 – 12251.
- [11] Silva P, Thompson E, Bailey S, et al. FtsH is involved in the early stages of repair of photosystem II in *Synechocystis* sp PCC 6803. *Plant Cell*, 2003, 15(9):2152 – 2164.
- [12] Cheregi O, Sicora C, Kos PB, et al. The role of the FtsH and Deg proteases in the repair of UV-B radiation-damaged photosystem II in the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6803. *Biochimica Et Biophysica Acta – Bioenergetics*, 2007, 1767(6):820 – 828.
- [13] Rippka R, Deruelles J, Waterbury JB, et al. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *Journal of General Microbiology*, 1979 (111):1 – 61.
- [14] Williams JGK. Construction of specific mutations in photosystem II photosynthetic reaction center by genetic engineering methods in *Synechocystis* 6803. *Methods in Enzymology*, 1988(167):766 – 778.
- [15] Gao H, Xu XD. Depletion of Vipp1 in *Synechocystis* sp PCC 6803 affects photosynthetic activity before the loss of thylakoid membranes. *Fems Microbiology Letter*, 2009, 292(1):63 – 70.
- [16] Dobakova M, Sobotka R, Tichy M, et al. Psb28 Protein Is Involved in the Biogenesis of the Photosystem II Inner Antenna CP47 (PsbB) in the Cyanobacterium *Synechocystis* sp PCC 6803. *Plant Physiology*, 2009, 149(2):1076 – 1086.
- [17] Fuhrmann E, Gathmann S, Rupprecht E, et al. Thylakoid Membrane Reduction Affects the Photosystem Stoichiometry in the Cyanobacterium *Synechocystis* sp PCC 6803. *Plant Physiology*, 2009, 149(2):735 – 744.

Construction of *sll0862* or *slr0643* disrupted mutants and their phenotype analysis in *Synechocystis* sp. PCC6803

Luobao Zhong, Gu Chen^{*}, Dandan Ren

(College of Light Industry and Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

Abstract: Recently a novel membrane-associated metalloprotease EGY1 was found to localize in the chloroplast of *Arabidopsis* and is required for chloroplast development and fatty acid biosynthesis. The genes *slr0643* and *sll0862* from cyanobacteria *Synechocystis* sp. PCC6803 encode EGY1 homologs. [**Objective**] For functional characterization of these two genes, [**Methods**] disrupted mutants *slr0643::km* and *sll0862::km* were constructed by homologous recombination. [**Results**] Under 30 degree, normal light and autotrophic growth, compared with wild type, *slr0643::km* showed similar growth rate in the early stage, but emitted less photosystem I (PSI) fluorescence under 77K and the activity of the entire photosynthetic electron transfer chain was only 83% of the wild type, while cells contained normal thylakoid membranes. No significant difference was found between *sll0862::km* and wild type under this condition. [**Conclusion**] These results indicated that *slr0643* was involved in PSI assembly and photosynthesis directly while *sll0862* did not affect assembly of PSI and PSII directly at this stage, which lay a foundation for further exploring their function and mechanism in cyanobacteria.

Keywords: *Synechocystis* sp. PCC6803; protease EGY1; homologs; *slr0643*; *sll0862*; disrupted mutant; 77K fluorescence

(本文责编 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30800609)

^{*} Corresponding author. Fax: +86-20-87113849; E-mail: chengu@scut.edu.cn

Received: 18 June 2009/Revised: 28 August 2009

《微生物学报》审稿程序

问:贵刊的审稿程序是怎样的?一般多长时间可以知道稿件是否被录用?

答:本刊严格遵守“三审制”,即:编辑部内审,专家外审,主编总审。我们的承诺是,从投稿日期开始,争取在2个月之内给出审稿结果,5~7个月之内发表。

- (1) 收到来稿后,首先将请2位专家进行初审,再送主编进行最后的总审,这个过程一般不会超过2个月。如果初审2位专家的意见分歧较大,编辑部将再请第3位专家进行初审,之后再送主编总审,那么此稿的审理时间可能会超过2个月。
- (2) 完成审稿后(即主编给出总审意见),编辑会给作者发出E-mail告知修改意见(包括学术上的和写作格式上的)。作者在返回修改稿后,经本刊审核合格后方可被录用。在此提醒作者,不要在远程系统中看到初审意见时就急于返回修改稿件。