

基因 *atpA*、*purHD* 和 *ndh* 的过量表达对 大肠杆菌 DH5 α 生长的影响

张艳军, 张晓云, 李志敏, 叶勤*

(华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室, 上海 200237)

摘要:【目的】理解大肠杆菌 DH5 α 及其耐乙酸突变株 DA19 在基本培养基中生长和乙酸积累差异的机理。【方法】根据前期针对两个菌株蛋白质组和培养中物料及能量平衡的分析, 通过 PCR 分别扩增大肠杆菌 DH5 α 及 DA19 的 *atpIBEFHAGDC* 基因、*purHD* 基因和与 NADH 氧化代谢相关 *ndh* 基因及其各自的调节区, 以及 NADH 脱氢酶 基因 (*nuoA-N*) 的调节区。将 *atpA*、*purHD* 和 *ndh* 基因分别克隆到载体 pTrc99a 中, 转化 DH5 α , 研究基因过量表达对生长的影响。【结果】测序结果表明两个菌株的这些 DNA 序列与公布的大肠杆菌 K-12 的相应序列完全一致, 在 DH5 α 菌株中分别过量表达 *atpA*、*purHD* 或 *ndh* 基因可以在一定程度上改善菌体的生长。【结论】过量表达 *purHD* 或 *ndh* 基因比过量表达 *atpA* 基因的效果更好, 但与 DA19 的生长相比仍然存在较大差距, 反映了代谢全局调节的重要性。

关键词: 大肠杆菌; 表达; *atpA*; *purH*; *ndh*

中图分类号: Q935 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2008) 08-1042-06

大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 生长快, 营养要求简单, 遗传背景清楚, 广泛用于合成外源蛋白, 但也存在一些不足之处, 特别是发酵过程中会产生乙酸, 严重抑制细胞的生长和外源蛋白的表达^[1]。大肠杆菌 DH5 α 是常用的宿主菌, 但在基本培养基中生长差, 产乙酸多。本实验室通过以乙酸为选择压力的连续培养, 筛选得到了耐乙酸突变株 DA19, 不但提高了对乙酸的耐受性, 而且减少了发酵过程中乙酸的生成^[2]。以 DA19 为宿主, 在基本培养基中进行补料分批培养时, 即使乙酸浓度高于 7 g/L 仍可分泌表达人表皮生长因子(hEGF)^[3]。

我们对基本培养基中分批培养的物料衡算显示: DH5 α 通过三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA 循环)和呼吸链提供能量所消耗的葡萄糖低于 DA19, 因而 DH5 α 通过形成更多的乙酸来提供能量^[4]。我们

也考察了 DA19 和 DH5 α 在相同比生长速率下蛋白质组的差异, 双向电泳显示 DH5 α ATP 合成酶的 AtpA 水平只有 DA19 的 1/30, 同时由 *yahK* 编码的醇脱氢酶的表达水平是 DA19 的 7 倍左右^[5], 该酶具有与 *adh* 基因产物类似的功能^[6], 参与 NADH 的周转, 同时产生醇类物质。由此推测 DH5 α 有限的呼吸链容量无法有效地将 NADH 转化为 NAD⁺, 从而造成了乙醇的产生。因此在本研究中将大肠杆菌 ATP 合成酶以及与 NADH 氧化代谢相关的两个脱氢酶—NADH 脱氢酶 I (由 *nuoA-N* 编码)和 NADH 脱氢酶 (由 *ndh* 编码)作为考察的对象。此外, 在基本培养基中 DH5 α 嘌呤核苷酸从头合成途径的 *purH* 编码的磷酸核糖氨基咪唑羧基酰胺转甲基酶水平明显低于 DA19^[5,7], 而且在基本培养基中添加腺嘌呤可以显著改善 DH5 α 的生长, 表明 DH5 α 嘌呤核苷酸从头合成能力较弱。根据

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(2002AA217021); 上海市重点学科建设项目(B505)

*通讯作者。Tel: +86-21-64252095; Fax: +86-21-64252250; E-mail: qye@ecust.edu.cn

作者简介: 张艳军(1979-), 男, 河北唐山人, 生物化学工程博士研究生。E-mail: iknow@126.com

收稿日期: 2008-02-25; 修回日期: 2008-05-10

NCBI 公布的大肠杆菌 K-12 的基因序列, *purH* 和 *purD* 由同一个启动子控制,因此在本研究中将 *purHD* 基因一起作为考察的对象。

基于以上分析,我们考察了大肠杆菌 DH5 α 和 DA19 中这些选定基因的序列是否存在差异,并进一步考察了在 DH5 α 中过量表达 *atpA*、*ndh* 和 *purHD* 等基因对其生长和代谢的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种:本研究使用的菌株为大肠杆菌 DH5 α [*supE44 lacU169 (80lacZ M15)hsdR17 recA1 endA1 gyrA96 thi-1 relA1*]及其耐乙酸突变株 DA19^[2]。采用的原核表达载体为 pTrc99a。

1.1.2 培养基:LB 培养基(1L 含 g):胰蛋白胨(英国 Oxiod 公司)10,酵母抽提物(Oxiod 公司)5, NaCl 10, pH 7.2。M 培养基(1L 含 g):Na₂HPO₄·12H₂O 15.12, KH₂PO₄ 3, NaCl 0.5, MgSO₄·7H₂O 0.5, CaCl₂

0.011, 葡萄糖 6, NH₄Cl 2, 1% (W/V)维生素 B₁ 0.2 mL, 微量元素混合液^[8]0.2 mL, pH 7.0。

1.1.3 主要试剂和仪器:PCR 引物由上海生工生物工程有限公司合成纯化, Taq plus 酶购自上海博彩生物有限公司, DNA 限制性内切酶购自 TaKaRa 公司。细菌基因组 DNA 抽提试剂盒、质粒提取试剂盒和凝胶回收试剂盒均购自上海生工生物工程有限公司。PCR 仪为杭州博日科技有限公司的基因扩增仪 TC-25/H。

1.2 基因扩增及序列测定

采用细菌基因组 DNA 抽提试剂盒分别提取大肠杆菌 DA19 和 DH5 α 的染色体 DNA,并以此作为模板,利用 PCR 技术分别扩增大肠杆菌 DA19 和 DH5 α 的 ATP 合成酶基因(*atpIBEFHAGDC*)、*ndh* 基因和 *purHD* 基因及其各自的调节区,以及两个菌株 *nuoA-N* 的基因调节区。根据 NCBI 公布的大肠杆菌 K-12 的基因序列设计 PCR 引物,见表 1。其中 ATP 合成酶基因的长度在 7 kb 以上,为了测序方便,将其分成四部分进行 PCR 扩增。

表 1 扩增 4 个基因的引物序列
Table 1 the primer sequences for PCR amplification of the four genes

Gene	Primer sequence(5'→3')	Elongation time/min
<i>nuo</i>	sense strand: TTTCCCTATAGCTCATTAGCTGCCT	1
	antisense strand: TTACAGCCAATGCTAGAGGACGAA	
<i>ndh</i>	sense strand: TTATTACGAGATTGTCTGGGACGAAG'	2
	antisense strand: TATATGCCAACATGCAAGCGAAGGAG	
<i>purHD</i>	sense strand: TATTTGCCACGGTAACCACAGTC	3
	antisense strand: TCGTAATCGCAAGGCGGTAAAAGGT	
<i>atp</i>	1 sense strand: TGAGAAATTGACCGGTTAGACTGTT	2
	antisense strand: AGCCATGTACAGCAGATCCATATTC	
	2 sense strand: AGCCATGTACAGCAGATCCATATTC	2
	antisense strand: GCGATGGCGTCTGAAGAACATTA	
3 sense strand: GGTCTAGACATGCAACTGAATTCCAC	2	
antisense strand: CTAA GCTTGTACCAGGATTGGGT		
4 sense strand: TAAGATCGCAAGCGTCCAGAACA	3	
antisense strand: CAAGCCGGTGTACATCGCTTTT		

分子生物学相关实验按常规实验方法进行^[9]。PCR 反应条件:94 10 min, 30 个循环(94 1 min, 55 1 min, 72 1~3 min, 见表 1), 72 10 min。得到的 PCR 产物,经 0.8% 琼脂糖凝胶电泳,采用 DNA 凝胶回收试剂盒回收目的片段,然后由上海生工生物工程有限公司测序。

1.3 表达质粒的构建

根据 NCBI 公布的大肠杆菌 K-12 的 *atpA*、*ndh* 和 *purHD* 基因序列设计引物(见表 2),分别在其 5'和 3'末端加入合适的限制性内切酶位点,以便与表达

载体 pTrc99a 连接。

以大肠杆菌 DA19 染色体 DNA 为模板,PCR 扩增目的基因,采用凝胶回收试剂盒回收目的片段。用两种相应的限制性内切酶将纯化后的 PCR 产物以及 pTrc99a 质粒分别于 37 双酶切过夜,经 DNA 琼脂凝胶纯化后,于 16 连接过夜。将连接产物转化感受态大肠杆菌 DH5 α ,涂布到含有氨苄青霉素的 LB 平板培养基,于 37 培养过夜,挑取单菌落。抽取转化子质粒,进行双酶切验证。所得阳性重组子送上海英俊生物技术有限公司测序。

表 2 扩增 *atpA*、*ndh* 和 *purHD* 基因的引物序列
Table 2 the primer sequences for PCR amplification of *atpA*, *ndh* and *purHD*

Gene	Primer sequence ^a (5'→3')	Restriction enzym
<i>atpA</i>	sense strand: GG <u>ICTAGAC</u> ATGCAACTGAATTCCAC	<i>Xba</i>
	antisense strand: CTTAAGCTTGTACCAGGATTGGGT	<i>Hind</i>
<i>ndh</i>	sense strand: TTTAAGGGGAATTCGTTGACTACGC	<i>EcoR</i>
	antisense strand: GCCAGTGTACGAAGCTTAATGCAAC	<i>Hind</i>
<i>purHD</i>	sense strand: TAATCCAGGATCCTTACCATGCAACAAC	<i>BamH</i>
	antisense strand: GTTAAGAAGCTTGTACAGTTAGGGATCAC	<i>Hind</i>

A: The underlined letters represent the sites of restriction enzymes

1.4 重组基因的表达

一、二级种子均采用 LB 培养基，培养时间分别为 12 h 和 10 h，接种量为 3%。为了避免因接种带入 LB 培养基中所残留的有机氮源，将二级种子培养液进行离心，用无菌生理盐水洗涤菌体 2 次，悬浮于 130 mL M 培养基，分装于 250 mL 摇瓶（每瓶 25 mL），进行摇瓶培养。二级种子和 M 培养基均加入 0.1 mol/L 的 IPTG。每隔一定时间取下摇瓶测定菌体浓度、pH 以及葡萄糖和乙酸的浓度。收集等量的诱导后的菌体，进行 SDS-PAGE 电泳分离，考马斯亮蓝染色后扫描，分析各条带的含量。

2 结果

2.1 基因的扩增及序列测定

以大肠杆菌 DA19 和 DH5 α 的染色体 DNA 作为模板，PCR 扩增表 1 中 ATP 合成酶第三部分（含 *atpA* 基因），获得约 1.6 kb 的基因片段，与预期扩增片段大小相符。割胶回收得到的扩增片段进行测序，结果表明两个菌株的该部分序列与大肠杆菌 K-12 完全一致。

采用同样方法，对 *atpIBEFHAGDC* 的其余 3 部分、*purHD*、*ndh* 和 *nuo* 调节区进行 PCR 扩增及测序，出乎意料，测序结果表明 2 个菌株的这些基因及其调节区序列与大肠杆菌 K-12 相应基因的序列也完全一致。因此 DA19 生长明显改善可能是其调节这些基因转录的全局因子发生了变化，有待进一步的考察。

2.2 大肠杆菌 DH5 α 中过量表达不同基因

DH5 α 和 DA19 的这些基因的结构基因和调节区域都相同，但 DA19 的生长大大改善，并且 2D 电泳表明 *atpA* 和 *purH* 表达量明显高于出发菌株 DH5 α ^[5]，因此考察在 DH5 α 中过量表达 *atpA* 和 *purHD* 基因对菌体生长的影响。此外，DH5 α 在氮源限制的连续培养中产生了乙醇^[10]，推测是其呼吸链容量的限制造成，而过量表达 *ndh* 基因可望改善 NADH 氧化为 NAD⁺ 的反应，因此也考察了在 DH5 α 中过量表达 *ndh*

基因对其生长的影响。

2.2.1 表达质粒的构建：以大肠杆菌 DA19 的染色体 DNA 作为模板，利用 PCR 扩增 *atpA* 基因，酶切后的 PCR 产物与表达质粒载体 pTrc99a 进行连接、转化 DH5 α ，抽取转化子的质粒进行双酶切验证，电泳图中发现一条与 *atpA* 基因片段理论大小一致的基因条带，说明 *atpA* 基因已成功克隆到 pTrc99a 载体中。按照同样方法构建带有 *purHD* 基因的 pTrc99a-*purHD* 和带有 *ndh* 基因的 pTrc99a-*ndh*。将得到的重组质粒 pTrc99a-*atpA*、pTrc99a-*purHD* 和 pTrc99a-*ndh* 送上海英俊生物技术有限公司测序，结果表明质粒中插入的各基因序列与大肠杆菌 K-12 的相应的基因序列完全一致。

2.2.2 基因 *atpA*、*purHD* 和 *ndh* 在 DH5 α 的过量表达：将得到的 DH5 α (pTrc99a-*ndh*)、DH5 α (pTrc99a-*purHD*) 和 DH5 α (pTrc99a-*atpA*) 3 个重组子以及对照菌株 DH5 α (pTrc99a) 和 DH5 α 分别进行摇瓶培养，结果见图 1。

DH5 α 在基本培养基中生长缓慢，延迟期很长，而且培养结束时菌体浓度增加极少，同时在培养过程中产生了较多的乙酸。转入质粒 pTrc99a 后，菌体生长无明显变化，但其葡萄糖消耗明显减少，结束时尚有 4.16 g/L 葡萄糖剩余，pH 变化不大，说明转入 pTrc99a 对菌体的代谢造成了不利的影响。在 DH5 α 菌株中分别过量表达 *atpA*、*ndh* 或 *purHD* 基因可以在一定程度上改善菌体的生长，并缩短延迟期。过量表达 *purHD* 和 *ndh* 基因的 DH5 α 的菌体浓度明显高于其它 3 个菌株，而且没有乙酸积累。将 *purHD* 与 *ndh* 基因共表达可以进一步改善 DH5 α 的生长（数据未显示），但与 DA19 相比，生长仍然有很大的差距。这也表明 DA19 生长改善是由多基因表达改变所造成的。

耐乙酸菌株 DA19 的 *atpA* 的表达量是 DH5 α 的 30 倍^[5]，在培养过程中仅产少量乙酸，而在 DH5 α 中过量表达 *atpA* 基因却使其乙酸生成量有所提高，这是因为质粒复制和质粒上基因表达需要消耗更多的

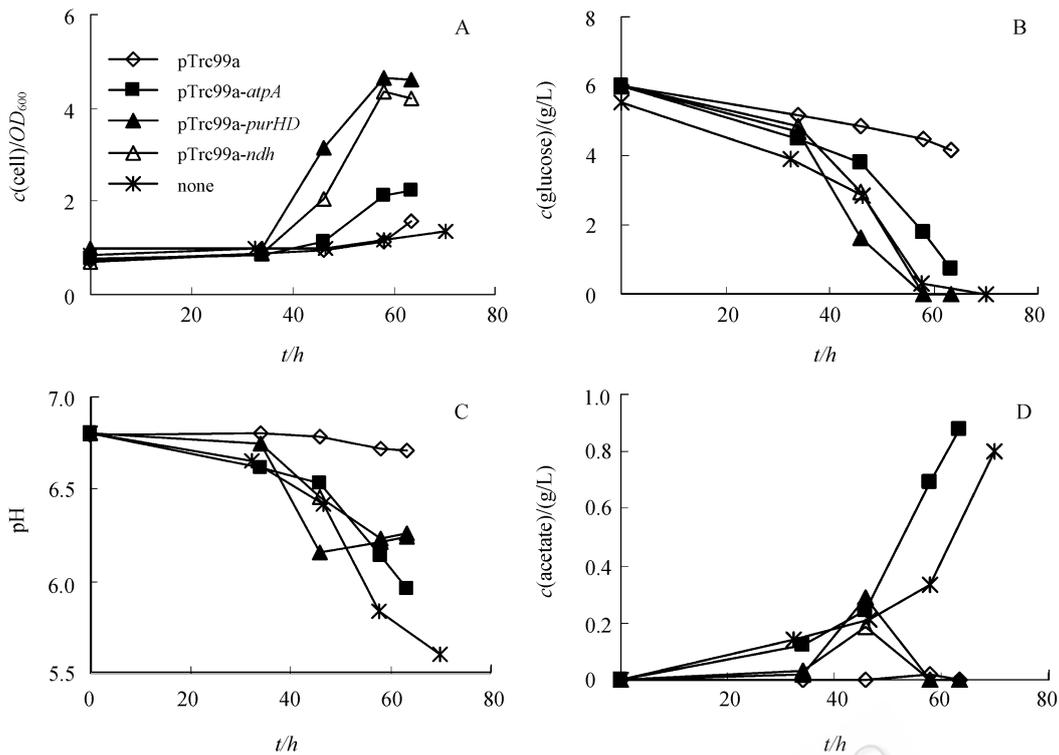


图 1 过量表达 *atpA*、*purHD* 和 *ndh* 基因对 DH5 α 生长的影响

Fig. 1 Effect of overexpression of *atpA*, *purHD* and *ndh* on the growth of DH5 α . A, cell; B, glucose; C, pH; D, acetic acid.

能量和物质, 因此代谢负担比 DH5 α 大, 从而会造成乙酸生产的增加。

诱导后的菌体蛋白进行 SDS-PAGE 电泳, 结果见图 2, 在 44.3 kDa 和 66.4 kDa 之间的蛋白存在明显差异, 其分子量与各表达蛋白的理论大小相符。

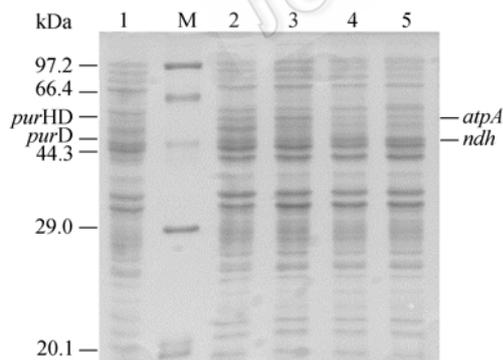


图 2 重组大肠杆菌中胞浆蛋白的 SDS-PAGE

Fig. 2 SDS-PAGE analysis of cell extract of recombinant *E. coli*. M, protein molecular weight marker; 1, DH5 α ; 2, DH5 α (pTrc99a-*purHD*); 3, DH5 α (pTrc99a-*atpA*); 4, DH5 α (pTrc99a); 5, DH5 α (pTrc99a-*ndh*).

3 讨论

大肠杆菌代谢网络由大量代谢反应组成, 其流量

分布受多种方式的调节, 其中转录调节被认为是最主要的调节方式。大肠杆菌中存在 ArcA、Crp、Fis、Fnr、Ihf、Lrp 和 NarL 等多个全局调节因子, 它们可以调节胞内约半数基因的表达^[11]。全局调节因子具有多向性的特征, 能够调节不同功能团的操纵子, 比如 ArcAB 因子可以调节 *gltA*、*acnA*、*mdh*、*sdhCDAB* 以及 *aceEF* 等基因的表达^[12]。测序结果表明大肠杆菌 DH5 α 及其耐乙酸突变株 DA19 中所考察的这些基因序列与大肠杆菌 K12 相应基因的序列完全一致, 因此二者在代谢和蛋白质组上的差异应归因于全局调控的差异。

在基本培养基中添加腺嘌呤后, DH5 α 通过补救合成途径利用外源腺嘌呤合成嘌呤核苷酸以满足细胞合成需要, 弥补了其嘌呤核苷酸从头合成能力低的问题, 从而使得其生长显著改善, 其 μ_m 增大为原来的 2.2 倍^[7], 而且明显改变了胞内某些关键酶活^[10]。在没有外源嘌呤和嘌呤核苷酸时, 细胞利用磷酸核糖焦磷酸 (PRPP) 通过从头合成途径合成嘌呤核苷酸^[13], *purH* 和 *purD* 分别编码了磷酸核糖氨基咪唑羧基酰胺转甲基酶 (AICAR 转甲基酶) 和磷酸核糖基甘氨酸酰胺合成酶^[14], 是嘌呤核苷酸从头合成途径的两个酶, 过量表达 *purHD* 改善了 DH5 α 的生长 (图 1)。

氧化磷酸化途径的产能效率大大高于基质水平磷酸化途径,是 ATP 的主要来源。大肠杆菌 F_0F_1 型 ATP 合成酶结合在膜上,在代谢的能量转换中起着重要的作用。Von Meyenburg 等^[15]发现缺乏完整的 ATP 合成酶的大肠杆菌在以葡萄糖为碳源的基本培养基中有氧生长时,生长速率和菌体得率只有野生菌的 75%和 55%。理论上,缺乏氧化磷酸化的细胞会提高酵解速率和/或降低生长速率来维持能量代谢的平衡,因此最终的结果是细胞可能将代谢流转向其它可以产生 ATP 的途径,例如乙酸生成途径。双向电泳表明 DH5 α 的 *atpA* 表达水平只有 DA19 的 1/30,显著低于 DA19^[5]。过量表达 *atpA* 基因可以在一定程度上改善 DH5 α 的生长(图 1)。

DH5 α 在氮源限制的连续培养中检测到了乙醇^[10],这在有氧培养过程中是很少见的。Berrios-Rivera 等^[16]认为,即使在有氧条件下,过量的 NADH 也会激活本来无活性的途径,使得菌体倾向于形成多消耗 NADH 的产物,如乙醇。大肠杆菌呼吸链中由 *ndh* 编码的 NADH 脱氢酶可以催化 NADH 氧化,但不产生能量^[17]。过量表达 *ndh* 基因可以比较明显的改善 DH5 α 的生长(图 1),反映 DH5 α 有限的呼吸链容量无法有效地将 NADH 转化为 NAD^+ ,从而造成了乙醇的产生。

研究表明,两个菌株的这些基因及其调控区序列完全一致,分别过量表达 *purHD*、*ndh* 或 *atpA* 基因都可以在一定程度上改善 DH5 α 在基本培养基中的生长,但与 DA19 的生长情况相比仍然存在较大差距,反应了代谢全局调节的重要性,同时也说明大肠杆菌代谢调节的复杂性,改变个别基因的表达水平并不能有效改变大肠杆菌的代谢效率。

参 考 文 献

- [1] Kim JYH, Cha HJ. Down-regulation of acetate pathway through antisense strategy in *Escherichia coli*: improved foreign protein production. *Biotechnol Bioeng*, 2003, 83: 841–853.
- [2] 朱才庆, 叶勤. 大肠杆菌 DH5 α 耐乙酸突变株的选育及其代谢特性研究. *微生物学报(Acta Microbiologica Sinica)*, 2003, 43: 460–465.
- [3] Han Y, Li Z, Du P, Gan R, Ye Q. Production of human epidermal growth factor in fed-batch culture of acetate-tolerant *Escherichia coli*. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2007, 15: 760–764.
- [4] 张晓云, 张艳军, 李志敏, 叶勤. 大肠杆菌 DH5 α 及其耐乙酸突变株 DA19 在碳源限制培养基中乙酸的积累. *华东理工大学学报(Journal of East China University of Science and Technology)*, 2007, 33: 475–480.
- [5] 张晓云. 大肠杆菌 DH5 α 及其耐乙酸突变株 DA19 的代谢特性研究(博士学位论文). 上海: 华东理工大学, 2006.
- [6] Wilkin JM, Soetaert K, Stelandre M, Buysse P, *et al.* Overexpression, purification and characterization of *Mycobacterium bovis* BCG alcohol dehydrogenase. *European Journal of Biochemistry*, 1999, 262: 299–307.
- [7] 张晓云, 张艳军, 李志敏, 夏月兰, 叶勤. 腺嘌呤对大肠杆菌 DH5 α 及其耐乙酸突变株 DA19 生长和代谢的影响. *微生物学报(Acta Microbiologica Sinica)*, 2007, 47: 430–434.
- [8] Pan JG, Rhee JS, Lebeault J M. Physiological constraints in increasing biomass concentration of *Escherichia coli* B in fed-batch culture. *Biotechnology Letters*, 1987, 9: 89–94.
- [9] Joseph Sambrook, David W. Russell. 分子克隆实验指南. 黄培堂, 等译. 北京: 北京科学出版社, 2002.
- [10] 张晓云, 张艳军, 李志敏, 叶勤. 大肠杆菌 DH5 α 及其耐乙酸突变株 DA19 在氮源限制下的代谢和关键酶特性研究. *生物工程学报(Chinese Journal of Biotechnology)*, 2007, 23: 896–901.
- [11] Annik P, Uwe S. Impact of global transcriptional regulation by ArcA, ArcB, Cra, Crp, Cya, Fnr, and Mlc on glucose catabolism in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187: 3171–3179.
- [12] Liu XQ, De WP. Probing the ArcA-P modulon of *Escherichia coli* by whole genome transcriptional analysis and sequence recognition profiling. *J Biol Chem*, 2004, 279: 12588–12597.
- [13] 沈同, 王镜岩. 生物化学(下). 第二版. 北京: 高等教育出版社, 1990: 302–308.
- [14] Mogens K, Li MM, Jan N, *et al.* Genetic evidence for a repressor of synthesis of cytosine deaminase and purine biosynthesis enzymes in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 1989, 171: 2124–2127.
- [15] Von Meyenburg K, Jørgensen B B, Nielsen J. Promoters of the *atp* operon coding for the membrane bound ATP synthase of *Escherichia coli* mapped by Tn10 insertion mutations. *Molecular and General Genetics*, 1982, 188: 240–248.
- [16] Berrios-Rivera SJ, Bennett GN, San KY. Metabolic engineering of *Escherichia coli*: increase of NADH availability by overexpressing an NAD(+)-dependent formate dehydrogenase. *Metabolic Engineering*, 2002, 4: 217–229.
- [17] Calhoun MW, Gennis RB. Demonstration of separate genetic loci encoding distinct membrane bound respiratory NADH dehydrogenases in *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 1993, 175: 3013–3019.

Effects of overexpression of *atpA*, *purHD* and *ndh* on the growth of *Escherichia coli* DH5 α

Yanjun Zhang, Xiaoyun Zhang, Zhimin Li, Qin Ye*

(State Key Laboratory of Bioreactor Engineering, East China University of Science & Technology, Shanghai 200237, China)

Abstract: [Objective] To study the mechanism of the differences in cell growth and acetate production between *Escherichia coli* DH5 α and its acetate-tolerant mutant DA19. [Methods] Based on our previous analysis of the proteome and mass and energy balances for both strains, we first amplified the genes of *atpIBEFHAGDC*, *purHD*, and *ndh*, their regulation regions, as well as the regulation region of *nuoA-N* in both strains by PCR, and compared the sequences. Then, we constructed the recombinant strains DH5 α (pTrc99a-*atpA*), DH5 α (pTrc99a-*purHD*) and DH5 α (pTrc99a-*ndh*) to study the effect of overexpression of *atpA*, *purHD* and *ndh* in DH5 α on growth. [Results] The sequences of the structural genes and the regulation regions in the two strains were completely identical with those of *E. coli* K-12. Overexpression of *atpA*, *purHD* and *ndh* separately in DH5 α improved cell growth to some extent. [Conclusion] Overexpression of *ndh*, *purHD* and *atpA* resulted in improved growth of DH5 α , but the growth of these recombinant strains was still lower than that of DA19, indicating the importance of global regulation to the cellular metabolism.

Keywords: *Escherichia coli*; Expression; *atpA*; *purH*; *ndh*

Supported by the National High Technology Research and Development Program of China (2002AA217021) and the Shanghai Leading Academic Discipline Project (B505)

*Corresponding author. Tel: +86-21-64252095; Fax: +86-21-64252250; E-mail: qye@ecust.edu.cn

Received: 25 February 2008/ Revised: 10 May 2008

科学出版社科学出版中心生物分社新书推介(2008-05)

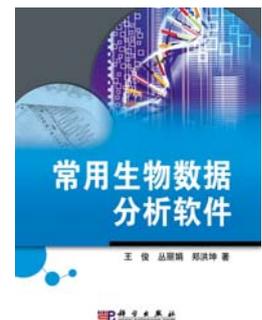
常用生物数据分析软件 (配实例光盘)

王俊 丛丽娟 郑洪坤 著

978-7-03-020622-0 ¥ 65.00 2008年5月出版

本书较为系统全面的介绍了生物信息学分析各个方面的软件用法, 结合具体实例, 使大家应用起来更具有参照性。全书共分8章, 内容包括(1) Unix/Linux 操作系统介绍, 介绍了基本的 Unix/Linux 操作命令(2) 数据的基本处理, 介绍了如何处理常用的生物信息学数据(3) 序列的比对, 介绍了常用的比对软件的用法及其在应用过程中要注意的问题(4) 基因组/基因的注释, 介绍了 Coding 和 Non-Coding 基因的预测方法(5) SNP 分析, 介绍了常用的从生物学数据中寻找 SNP 的软件(6) 进化分析专题, 介绍了几个常用的用于分子进化分析的软件, 内容涉及进化树的构建, Ka/Ks 的计算等(7) 基因表达分析专题, 介绍了 EST 及生物芯片分析的流程和方法(8) 蛋白质结构预测, 介绍了蛋白质三维结构预测的流程及方法。

本书适合从事生命科学相关领域研究的高年级本科生, 研究生及科研工作者学习使用。



欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书 (免邮费)

邮购地址: 北京东黄城根北街16号 科学出版社 科学销售中心 邮编: 100717

联系人: 周文字 联系电话: 010-64031535 (带传真)

更多精彩图书请登陆网站 <http://www.lifescience.com.cn>, 欢迎致电索要书目