

番茄花叶病毒移动蛋白和番茄抗病基因 *Tm-2*² 的互作诱导烟草转化体程序性细胞死亡

姜国勇^{1,2} 杨仁崔^{1*}

(¹ 福建农林大学作物遗传研究所 福州 350002)

(² 莱阳农学院遗传研究室 莱阳 265200)

摘 要: 番茄的抗病基因 *Tm-2*² 与番茄花叶病毒(ToMV)的移动蛋白 MP 基因是一对互作的基因, *Tm-2*² 基因和 *ToMV-MP* 基因同时在烟草中表达, 并分别获得单一基因整合的纯合转化体植株。病毒接种试验表明, *Tm-2*² 基因转化体与 *Tm-2*² 番茄对 *Tobamavirus* 病毒的特异抗性结果一致; *Tm-2*² 转基因植株和 *ToMV-MP* 转基因植株杂交试验及其农杆菌注射试验均证明: (1) *Tm-2*² 基因与 *ToMV-MP* 在转基因烟草上保持“基因对基因”的互作关系; (2) 在外源乙烯的参与下, ToMV 的移动蛋白与 *Tm-2*² 基因编码蛋白的互作能够诱导转化体程序性细胞死亡。这一结果为今后研究 *Tm-2*² 与 MP 互作的分子机制奠定了基础。

关键词: 番茄花叶病毒(ToMV) 移动蛋白, *Tm-2*² 转基因烟草

中图分类号: Q75 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2005)02-0301-04

番茄花叶病毒(*Tomato mosaic virus*, ToMV)是一种严重危害番茄的病毒,有 ToMV-0、ToMV-1、ToMV-2、ToMV-2a 等 4 个病毒株系能不同程度地感染番茄植株,而含有 *Tm-2*² 基因的番茄能够特异地抗 ToMV-0、ToMV-1 和 ToMV-2 毒株而被广泛地应用于栽培种(*Lycopersicon esculentum* Miller)的遗传改良^[1]。*Tm-2*² 基因位于番茄第 9 号染色体长臂近着丝点处,与 *nv* 基因紧密连锁,与另一抗病基因 *tm-2* 和感病基因 *tm-2* 互为等位基因^[1,2]。近几年的研究表明,ToMV-病毒不同分离物的移动蛋白拥有 4 个氨基酸的差异,ToMV 的移动蛋白在激发 *Tm-2* 和 *Tm-2*² 植株抗病反应时与其结构域中的差异氨基酸有关。当移动蛋白(MP)中的 238 和 244 两个位点氨基酸的改变,能使 *Tm-2*² 抗病基因失去功能^[3-5],番茄花叶病毒移动蛋白被认为是 *Tm-2*² 番茄抗病反应的激发子^[4,5],在分子机理上,激发子通常是通过诱导寄主的程序化细胞死亡(Programmed Cell Death, PCD)来进行相互作用^[6]。而 ToMV 是否能够诱导含有 *Tm-2*² 番茄产生超敏反应(Hypersensitive Response, HR),并形成程序性细胞死亡(PCD),一直受到研究人员的关注,虽然有相应的细胞学实验和解释^[4,5,7],但是并没有见到直接的证据,因为感染的番茄叶片上没有形成可见的坏死斑。为此,我们有兴趣利用转基因烟草探讨不同 *Tobamavirus* 病毒与抗病基因 *Tm-2* 和 *Tm-2*² 之间的互作,并从中解答 R-基因与病毒之间的拮抗关系及其诱发抗病的分子机制。本研究在转基因烟草接种病毒试验的基础上,通过 ToMV 移动蛋白基因(MP)烟草转化体和 *Tm-2*² 基因烟草转化体植株的杂交试验以及农杆菌注射试

验,直接证明 ToMV 移动蛋白基因 MP 在与 *Tm-2*² 基因编码蛋白的相互作用时,能够诱导寄主细胞的程序性死亡,这对于研究 *Tm-2*² 植株抗病反应及其分子机制具有积极意义。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和仪器: Ex Taq 酶、dNTP 购自 TaKaRa 限制性内切酶购自于 Promega Corporation; MES(2-(N-吗啉代)乙烷磺酸)和 AS(乙酰丁香酮)均为 Sigma 公司产品;PCR 扩增引物、烟草种子 SR1 均由荷兰格罗宁根大学 GBB 研究中心提供。PCR 扩增仪为 PERKIN ELMER 公司产品,型号为 DNA Thermal Cycler 480。

1.1.2 MS 培养基: 每升含有 Murashiga & Skoog Media 4.42g (大量元素、微量元素和有机物, Duchefa 公司产品, The Netherlands),蔗糖 30g,琼脂粉 8g, pH 5.8。

1.1.3 试验材料: *Tm-2*² 转基因烟草和番茄花叶病毒 MP 的转基因烟草由叶盘法转化获得^[2], 49-27-1、47-23-12 和 253-29-9 是经过卡那霉素筛选、PCR 扩增和病毒接种获得的单基因整合的 T2 代纯合转化体,用于病毒的抗性鉴定和杂交试验。47-23-12 和 49-27-1 分别为农杆菌株 TM47 和 TM49 的 T2 代纯合转基因植株, TM47 含有 2586bp 的 *Tm-2*² 基因 ORF、自主启动子以及 1109bp 的 C-末端,并与 *Npt II* 报告基因和 *Nos*-末端相连接; TM49 含有 2586bp 的 *Tm-2*² 基因 ORF 和 35S 启动子, T-DNA 结构图参见文献[2], 253-29-9 为 TM53 转化体, TM53 由 pTM253 转化农杆菌 LBA4404 获得, 含有 35S 启动

基金项目: 国家自然科学基金(30170633)

* 通讯作者。E-mail: rcyang@fjau.edu.cn

作者简介: 姜国勇(1960-),男,山东文登人,教授,博士,植物分子遗传学和分子病理学专业。Tel: 86-535-2922976; Fax: 86-535-7331304;

E-mail: jiangguoyong@hotmail.com

收稿日期: 2004-06-17, 修回日期: 2004-11-07

子和番茄花叶病毒的移动蛋白基因 *MP* (图 1)。TM47、TM49 和 TM53 均有荷兰格罗宁根大学 F. Lanfermeijer 博士构建。

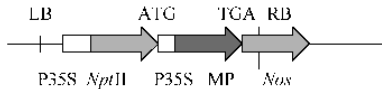


图 1 双载体质粒 pTM253 的 T-DNA 结构图

Fig.1 Gene position in T-DNA of binary vector pTM253

1.2 PCR 扩增

PCR 扩增使用的方法、成分以及反应条件参见文献 [2], 引物分别为 PrRuG531-532 (F: 5'-ACACGCTTGCTACTCCAAA-3', R: 5'-GCGTTGTCAA CATAAGATCG-3'), PrRuG529-530 (F: 5'-TTCAAGAACTATGAGGGTCAA-3', R: 5'-TCTTAAGATTGAAT CCTGTTGC-3') 以及 PrRuG039-040 (F: 5'-CTCCATCGTTCACACT CGTTACT-3', R: 5'-CTGTCAAAGCTGAGAACTTC-3')。

1.3 病毒接种、鉴定和分析

4 个 *Tobamovirus* 病毒株系的分离物人工接种到 4 叶龄的烟草和番茄上部叶片上, 1 周后, 取其上部的另一叶片, 匀浆并涂抹到心叶烟 (*Nicotiana glutinosa* L.) 叶片上鉴定坏死斑, 重复 3 次。4 个毒株均由国际植物研究中心 (Wageningen, the Netherlands) 提供, 它们是分离物 TMV-U1 (毒株 TMV-0)、ToMV-GdK (毒株 ToMV-0)、ToMV-GeRo (毒株 ToMV-2) 和 ToMV-GM65 (毒株 ToMV-2a)。ToMV 和 TMV 病毒分离物或变异株的数据分别来源于 GenBank 数据库和参考文献 [3~5]。

1.4 杂交试验

开花前, 在转 *Tm-2*² 基因烟草植株去雄蕾后, 然后用番茄花叶病毒的转 *MP* 基因烟草的花粉授粉, 收集杂交种子, 消毒后, 播种于 MS + 100mg/L 的卡那霉素培养基上, 诱导种子萌发, 计算发芽率。发芽的种子播种于温室, 二叶时取叶片提 DNA, 检测发芽种子的目的基因, 重复两次。植株 DNA 的提取和 PCR 扩增方法见文献 [2]。

1.5 农杆菌注射试验

28℃ 过夜培养农杆菌 TM47、TM49 和 TM53 至 OD 值为 1.0~1.5, 离心收集菌体, 用 MMAi 重新悬浮细菌, 注射菌液于烟草叶片, 以注射 MMAi 为对照, 24h 以后放入含有 10 μ L/L 乙烯的光照培养室中, 分别于第 3、4、5 天以后观察记录实验结果, 重复 3 次。

MMAi 的组成是: MS + 1.92g/L 2-(N-吗啉代)乙烷磺酸 (MES) + 10 μ L 200mmol 乙酰丁香酮 (AS), pH = 5.6。

2 结果

2.1 *Tm-2*² 和 *MP* 基因烟草转化体的筛选及其特异抗性的鉴定

*Tm-2*² 基因和 *MP* 基因转化体自交, 其后代分离植株个体, 收获种子依次通过卡那霉素、PCR 扩增和病毒接种鉴定转化体, 均证实 *Tm-2*² 基因转化烟草的 49-27-1、47-23-12 和 253-29-9 自交后代 F₁ 植株个体呈 3:1 比例分离。表明烟草

转化体的 *Tm-2*² 基因和烟草花叶病毒的 *MP* 基因已经分别以单拷贝整合到受体植株核基因组中。转 *Tm-2*² 基因烟草 49-27-1 和 47-23-12 均对 TMV、ToMV-0、ToMV-2 毒株表现抗性和对 ToMV-2a 毒株的分离物表现感病; 非转化体烟草 SR1 和含有 *MP* 基因烟草转化体植株 253-29-9 对上述的 4 个毒株均表现感病。表明 *Tm-2*² 基因和 *MP* 基因能够在烟草转化体上表达并稳定遗传。含有 *Tm-2*² 基因的转化体对 TMV 和 ToMV 病毒的不同毒株具有特异抗性。同样, TMV 和 ToMV 病毒的不同毒株对含有 *Tm-2*² 基因的转化体具有专一的侵染性 (表 1)。

表 1 不同基因型烟草植株对 TMV 和 ToMV 病毒的抗性

Table 1 Resistance to TMV and ToMV in distinct genotype tobacco plants					
Plants	Genotype	TMV-0	ToMV-0	ToMV-2	ToMV-2a
SR1	- - / - -	S	S	S	S
49-27-1	<i>Tm-2</i> ² / <i>Tm-2</i> ²	R	R	R	S
47-23-12	<i>Tm-2</i> ² / <i>Tm-2</i> ²	R	R	R	S
253-29-9	<i>MP</i> / <i>MP</i>	S	S	S	S

R: Resistance; S: Susceptible.

2.2 *Tm-2*² 转基因烟草与 *ToMV-MP* 转基因烟草的杂交种子丧失发芽能力

基于过去的研究, 番茄花叶病毒的移动蛋白被认为是 *Tm-2*² 番茄抗病反应的激发子, ToMV-MP 激发 *Tm-2*² 的抗病反应 [4, 5]。通过番茄花叶病毒移动蛋白 *MP* 的突变也验证了 *MP* 与激发番茄 *Tm-2*² 的抗病反应直接相关 [5], 但是没有提供直接的证据证明移动蛋白 *MP* 能够通过寄主细胞的程序化死亡 (PCD) 诱导寄主细胞死亡。在分子机理上, 如果病原菌激发子激发寄主的抗病反应能够诱导寄主的程序化细胞死亡 (PCD), 那么这两个基因的互作就能够诱导寄主个体的死亡, 通过基因转化体的杂交试验实现两个对应基因的重组和共同表达, 可以直接验证两个对应基因的互作, 以及程序化细胞死亡的发生如何, 也就是说, 如果移动蛋白 *MP* 能够在 *Tm-2*² 转基因烟草的杂交植株后代表达, 则基因表达所引起的超敏性反应会引起杂种胚的细胞死亡而失去发芽能力。我们利用纯合的 *Tm-2*² 转基因植株和 *ToMV-MP* 转基因植株进行杂交试验, 通过检测杂交后代的种子发芽率来验证二者的相互作用。试验结果表明, 转基因烟草的 3 个株系 49-27-1、47-23-12 和 253-29-9 在含有卡那霉素的培养基上拥有 90% 左右的发芽率, 而 49-27-1、47-23-12 分别与 253-29-9 的杂交试验中仅仅获得了 15.87% 和 25.37% 的发芽率, 如果考虑非转化体配子和单一基因配子形成杂种的比例, 我们估算发芽率低于 5.0% 表明移动蛋白 *MP* 基因与 *Tm-2*² 基因重组以后, 其编码蛋白的相互作用能够诱导寄主细胞死亡, 使得杂种失去了生活力, 从而大大降低了转化体杂种的发芽率, PCR 检测表明, 发芽的杂种并不同时含有 *Tm-2*² 和 *MP* 基因, 或者不含有任何 *Tm-2*² 和 *MP* 基因 (表 2)。

表 2 ToMV-*MP* 和 *Tm-2*² 转基因烟草杂交试验

Table 2 Crossing tests for ToMV-*MP* and *Tm-2*² transgenic tobacco

Types	Germinated seeds/ Tested seeds	Germination ratio /%	PCR Test	
			<i>Tm</i> ⁺	<i>MP</i> ⁺
49-27-1	61/66	92.43	58	—
47-23-12	101/116	87.06	96	—
253-29-9	87/92	94.56	—	82
49-27-1 × 253-29-9	10/63	15.87	3	3
347-23-12 × 253-29-9	17/67	25.37	3	5

2.3 *Tm-2*² 基因和 *MP* 基因的瞬间表达能够诱导叶肉细胞程序性细胞死亡

利用农杆菌注射的方法将 *Tm-2*² 基因和 *MP* 基因同时转化烟草叶肉细胞,其编码蛋白能够在转化细胞中获得表达,若 *MP* 是 *Tm-2*² 基因编码蛋白的激发子,就能够诱导 *Tm-2*² 基因细胞的过敏反应(Hypersensitive Response, HR),并引起程序性细胞死亡,在被转化的叶片上形成坏死斑。由于烟草与番茄的遗传背景不同, *Tm-2*² 基因的烟草转化细胞在与 *MP* 的相互作用时需要乙烯(10 μ L/L)的参与,才能诱导形成可见的坏死斑^[9,10]。在农杆菌注射后的第 3 天到第 5 天观察发现,只有 TM49 与 TM53、TM47 与 TM53 同时注射的部分能够诱导形成坏死斑,并且在乙烯的持续性刺激之下,坏死斑症状的形成由点到面、逐步扩大,而单独注射 TM49、TM47 和 TM53 以及 MMAi 溶液的部位,其被转化的细胞因为自身不能被诱导,也没有两者之间的互作,尽管受到乙烯的持续性刺激也不能形成坏死斑(图 2)。这一结果进一步表明, *Tm-2*² 基因和 *MP* 基因的互作符合“基因对基因”的相互关系,可以在转基因烟草叶片上表现出来,烟草叶片上的瞬间表达能够诱导转化细胞的程序性细胞死亡。

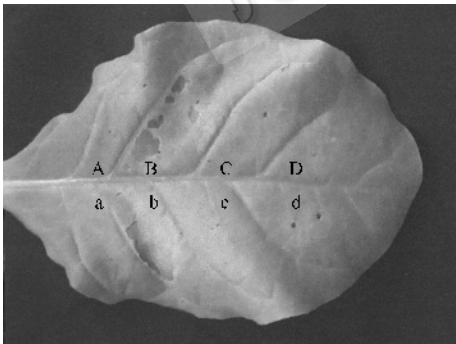


图 2 烟草叶片的农杆菌注射试验

Fig.2 Test result of 5 days after agro-infiltration

A: TM49; B: TM49 + TM53; C: TM53; D: MMAi; a: TM47; b: TM47 + TM53; c: TM53; d: MMAi.

3 讨论

*Tm-2*² 基因的编码蛋白对 TMV、ToMV-0 和 ToMV-2 等 3 个毒株的分离物表现抗性和对 ToMV-2a 毒株的分离物表现感病,与含有 *Tm-2*² 基因的番茄植株对 ToMV 病毒不同株系的特异反应结果一致^[7],表明含有 *Tm-2*² 基因的烟草纯转化体具有单基因整合和遗传特性, *Tm-2*² 基因的表达具有抗

病特异性和功能完整性。有关抗病基因与无毒基因编码蛋白之间的反应, Gabriel 和 Rolfe^[6] 提出“受体-配基(Receptor-Ligand)”模型,他们认为,寄主植物被诱导的一系列抗病反应是由于病原物 Avr 蛋白(Ligand)直接与寄主 R 蛋白的受体部位(Receptor)相互作用的结果。这一模型表明在 Avr 蛋白与 R 蛋白之间存在一个互作位点,这个互作位点应该是编码蛋白中相互对应的特异结构域或氨基酸。如果将 *Tobamovirus* 病毒的 4 个毒株 B 区和 C 区的氨基酸序列进行比较(图 3)就会发现, ToMV-2a 与 ToMV-0、ToMV-2 两个毒株的差异在于 242 和 248 位点的氨基酸不同, ToMV-2a 毒株在这两个位点分别是带正电荷的精氨酸(R)和带负电荷的谷氨酸(E),而 ToMV-0、ToMV-2 两个毒株则分别为不带有电荷的丝氨酸(S)和带有正电荷的赖氨酸(K),这种氨基酸的差异显然影响了 ToMV-2a 毒株的磷酸化过程,使得病毒蛋白复合体不能有效地通过寄主细胞的胞间道。 *Tobamovirus* 病毒不同分离物的差异特性和 *Tm-2*² 基因植株对病毒的特异抗性证明,移动蛋白特异位点的氨基酸差异决定了病毒不同分离物的致病特性,及其与寄主的感抗关系, Weber^[5] 在番茄上的研究中曾经分析了这一点,我们在烟草上实施的杂交试验和互作试验直观地确认了这种“基因对基因”互作关系。

Domain B			
205	RLAKF RT ----- KSSK RGPKNNNNLG KGRSGGRP KP K	FDVEK	250
205	RLAKF RT ----- KSSK RGPKNNNNLG KGRSGGRP KP K	FDVEK	250
205	RLAKF RT ----- KSSK RGPKNNNNLG KGRSGGRP KP K	FDVEK	250
205	RLAKF RSRTRKKSDV RKGKI SSSDR SAPNKNYRNV K	FDGGV	250

Domain C			
251	DNLIEDEAET SVADSDSY 268.....	ToMV-2a	Isolate LIIa
251	DNLIEDEAET SVADSDSY 268.....	ToMV-2a	Isolate LII
251	DNLIEDEAET SVADSDSY 268.....	ToMV-0	P03584
251	NNLIDDDSET TVAESDSF 268.....	ToMV-0	P03582

图 3 *Tobamovirus* 病毒移动蛋白的 4 个毒株 B 区和 C 区的氨基酸序列的比较

Fig.3 Amino acids alignments for MP Domain B and C of *Tobamovirus*

*Tm-2*² 基因番茄对 *Tobamovirus* 病毒的抗性在常温条件下表现为系统获得性抗性,其症状并不像含有 *N* 基因的心叶烟(*Nicotiana glutinosa* L)那样,具有明显可见的过敏性坏死斑,但是在高温(> 28 $^{\circ}$ C)条件下,可以在衰老的叶片上观察到呈超过敏反应状的坏死斑^[7],所以 ToMV 是否能够诱导含有 *Tm-2*² 基因的番茄植株产生超过敏反应,并形成程序性细胞死亡(PCD),一直受到研究人员的关注,有人曾提供了具有一定说服力的细胞学实验证据,但有些学者解释说^[7],从植物病理学意义上看,番茄花叶病毒的移动蛋白(MP)激发 *Tm-2*² 番茄的抗病反应是通过诱导寄主细胞的程序化细胞死亡(PCD)来实施的,也就是说,移动蛋白 MP 能够通过诱导 *Tm-2*² 转基因烟草植株的超过敏性反应(HR),引起寄主单个细胞的死亡,而形成没有坏死斑症状的系统获得性抗性(SAR)。农杆菌注射和杂交试验的结果清晰地验证了上述的病理学解释,在乙烯的持续诱导下,同时表达的 *Tm-2*² 基因与 *ToMV-MP* 基因相互作用以后能够诱导烟草叶片的细胞死亡——乙烯可以诱导氧粒子自由基(ROS)的发生和可见的坏死斑(HR)^[8],并诱导 *PR-1a* 基因的表达^[9],而同时表达 *Tm-2*² 基因与 *ToMV-MP* 基因的种胚因两者互作而致死,失去发芽能

力。尽管杂交试验中的杂种发芽率并不为 0,原因也可以解释,当转化体杂交和外源基因重组时,非转化体配子和单一基因配子重组形成的杂种不可能也不会诱导产生细胞凋亡,部分杂种也就拥有一定的生活力和发芽势。因此试验结果证明(1)*Tm-2²*与*ToMV-MP*基因具有“基因对基因”的互作关系(2)*ToMV*的移动蛋白能够诱导含有*Tm-2²*基因植株及其细胞的程序性细胞死亡。诚然,*ToMV*的移动蛋白诱导*Tm-2²*基因植株细胞死亡的机理及其相关的信号转导途径有待于进一步的深入研究。

参 考 文 献

- [1] 余延年,吴定华,陈竹君. 番茄遗传学.长沙:湖南科学技术出版社,1999:5.
- [2] 姜国勇,杨仁崔. 番茄*Tm-2²*基因在烟草中的表达及其对番茄花叶病毒(*ToMV*)的特异抗性. 病毒学报,2003,19(4):365-370.
- [3] Calder V L, Palukaitis P. Nucleotide sequence analysis of the move-

- ment genes of resistance breaking strains of tomato mosaic virus. *J Gen Virol*, 1992, 73(Pt 1):165-168.
- [4] Meshi T, Motoyoshi F, Maeda T, et al. Mutations in the tobacco mosaic virus 30-kD protein gene overcome *Tm-2* resistance in tomato. *Plant Cell*, 1989, 1(5):515-522.
- [5] Weber H, Schultze S, Pfitzner A J. Two amino acid substitutions in the tomato mosaic virus 30-kilodalton movement protein confer the ability to overcome the *Tm-2* resistance gene in the tomato. *J Virol*, 1993, 67(11):6432-6438.
- [6] Gabriel D W, Rolfe B G. Working models of specific recognition in plant-microbe interaction. *Annu Rev Phytopathology*, 1990, 28:365-391.
- [7] Hall T J. Resistance at the *Tm-2* locus in the tomato to tomato mosaic virus. *Euphytica*, 1980, 29:189-197.
- [8] 姜国勇,杨仁崔. Ethylene initiate the ROS generation and results in necrotic cell death during the *Tm-2²* response to *ToMV*. 福建农林大学学报, 2004, 33(1):80-84.
- [9] 姜国勇,杨仁崔. 番茄*Tm-2²*基因是一个受外源乙烯调节的抗病基因. 病毒学报, 2004, 20(4):359-363.

Tomato R-protein *Tm-2²* gene interacting with *ToMV* movement protein triggered programmed cell death in tobacco transformants

JIANG Guo-yong^{1 2} YANG Ren-cui^{1*}

(¹ Fujian Agricultural and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

(² Laiyang Agricultural College, Laiyang 265200, China)

Abstract: Tomato *Tm-2²* and *ToMV MP* gene are a pair of R-Avr mediated response genes. *Tm-2²* and *MP* gene expressed in tobacco transformants with single-copy integration respectively. *Tm-2²* transformants displayed virus-resistant specificity as the reaction of original *Tm-2²* tomato species in virus-inoculation test. The results of agro-infiltration experiment and transformant-crossing test between *Tm-2²* plants and *MP* plants indicated that:(1). *Tm-2²* and *ToMV-MP* maintained “Gene for Gene” characters in transgenic tobacco;(2). The interaction between *Tm-2²* and *MP* of *ToMV* could induce the programmed cell death in the host tobacco by exo-ethylene stimulation. This result will be useful in furthering understanding of molecular mechanism of *Tm-2²* interaction with *ToMV-MP*.

Key words: *Tomato mosaic virus* (*ToMV*), Movement protein, *Tm-2²* transgenic tobacco

Foundation item: National Natural Science Foundation(30170633)

* Corresponding author. E-mail: rcyang@fjau.edu.cn

First author. Tel: 86-535-2922976; Fax: 86-535-3933080; E-mail: jiangguoyong@hotmail.com

Received date: 06-17-2004

正 体 和 斜 体

参照《中国科学院自然科学期刊编排格式规范》、国家标准 GB7713-87 和《中国学术期刊(光盘版)检索与评价数据规范》等要求,对本刊经常遇到的一些格式作如下规定:

1. 物种的学名:菌株的属、种用拉丁文斜体,属的首字母大写,其余小写;属以上用拉丁文正体。病毒目、科、亚科、属的接受名一律斜体,名称的首字母大写;种名用斜体,第一个词的首字母要大写,除专有名词外,其它词首字母一律用正体。
2. 限制性内切酶:内切酶前3个字母用斜体,后面的字母和编码正体平排,如 *Bam*H I, *Hind*III, *Pst* I, *Sau*3AI 等。
3. 氨基酸和碱基:氨基酸缩写用3个字母表示时,仅第一个字母大写,其余为小写,全部正体;用单字母表示时为大写正体。碱基缩写均为大写正体。
4. 质粒和载体:质粒一律用正体,首字母 P 为小写,后面字母和数码平排,如 nBR322, nGRKT-inaR 等。