

## 大豆胞囊线虫热激蛋白基因 *Hsp70* 的克隆与原核表达

郑雅楠<sup>1</sup>, 王媛媛<sup>2</sup>, 陈井生<sup>3</sup>, 朱晓峰<sup>4</sup>, 陈立杰<sup>4</sup>, 段玉玺<sup>4</sup>

(1. 沈阳农业大学 林学院, 辽宁 沈阳 110866; 2. 沈阳农业大学 生命科学技术学院, 辽宁 沈阳 110866; 3. 黑龙江省农业科学院 大庆分院, 黑龙江 大庆 163316; 4. 沈阳农业大学 植物保护学院, 辽宁 沈阳 110866)

**摘要:**采用 RT-PCR 技术结合基因组步移技术, 从大豆胞囊线虫 (*Heterodera glycines*) 中克隆了热激蛋白 70 基因 (*Hsp70*) 的全长 cDNA 序列 (*Hg-Hsp-70*), 全长 1 953 bp, GenBank 登录号为 FJ816100. 1。碱基序列分析结果表明, 该序列含有 9 个外显子与 8 个内含子, 与其它线虫具有较高的同源性。氨基酸序列分析表明, 该基因编码 650 个氨基酸, 相对分子量为 70.7 kD, 具有 2 个 *Hsp70* 基因家族的签名序列, 与其它线虫的该基因氨基酸序列具有很高的同源性。构建了原核表达载体 *Hsp70pEASY-E1*, 采用 IPTG 诱导蛋白表达, SDS-PAGE 电泳结果表明, 当 IPTG 终浓度为 0.2 ~ 1.2 mmol·L<sup>-1</sup> 时均能显著诱导表达; 以终浓度 0.8 mmol·L<sup>-1</sup> 的 IPTG 诱导 5 h 蛋白表达量达到最大值。

**关键词:**大豆胞囊线虫; 热激蛋白 70; 克隆; 表达

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2012)02-0198-05

## Cloning and Prokaryotic Expression of *Hsp70* from Soybean Cyst Nematode (*Heterodera glycines*)

ZHENG Ya-nan<sup>1</sup>, WANG Yuan-yuan<sup>2</sup>, CHEN Jing-sheng<sup>3</sup>, ZHU Xiao-feng<sup>4</sup>, CHEN Li-jie<sup>4</sup>, DUAN Yu-xi<sup>4</sup>,

(1. College of Forestry, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, Liaoning; 2. College of Bioscience and Biotechnology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, Liaoning; 3. Daqing Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Daqing 163316, Heilongjiang; 4. College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, Liaoning, China)

**Abstract:** Heat shock protein 70 (*Hsp70*) family is one of the most important heat shock proteins and an evolutionarily conserved protein. It plays an important role in environmental adaptability and stress tolerance of organisms. In this paper, *Hsp70* complete cDNA sequence (*Hg-Hsp-70*) was cloned from *Heterodera glycines* by RT-PCR and genome walking technology, the full length is 1953 bp, and the Genbank accession number is FJ816100.1. The sequence structure analysis showed that the genomic sequences contained 9 exons and 8 introns, and the sequence homology was higher than other nematodes. This gene encoded 650 amino acids, and the calculated molecular weight was 70 kD, carried two important intact *Hsp70* signature sequences. The result of amino acids sequences analysis revealed that translated molecules showed high homology with other nematodes. The prokaryotic expression vector *Hsp70pEASY-E1* was constructed for *Hg-Hsp-70*. *Hg-Hsp-70* protein was obviously induced to express by 0.2-1.2 mmol·L<sup>-1</sup> IPTG and reached the maximum expression, after induced 5 h by 0.8 mmol·L<sup>-1</sup> IPTG.

**Key words:** Key words: *Heterodera glycines*; Heat shock protein 70 (*Hsp70*); Clone; Expression

大豆胞囊线虫 (*Heterodera glycines* Ichinohe) 是进化程度较高的植物寄生线虫, 是大豆生产上的主要病害<sup>[1]</sup>。在长期进化和适应环境的过程中大豆胞囊线虫可以耐受各种不同的环境压力<sup>[2]</sup>, 特别是低温胁迫。因此, 开展大豆胞囊线虫环境适应性机理的研究, 对于其防治非常必要。

Ritossa 于 1964 年最早在果蝇 (*Drosophila*) 体内发现了热激蛋白 (Heat Shock Protein, *Hsp*)<sup>[3]</sup>, 此后有关热激蛋白的研究迅速发展起来。热激蛋白普遍存在于原核和真核生物中, 是生物受到高温胁迫和其它逆境刺激时产生的特殊蛋白质<sup>[4]</sup>。日本学者森本根据分子量大小将热激蛋白划分为四类: *Hsp90* 家族 (83 ~ 90 kD)、*Hsp70* 家族 (66 ~ 78 kD)、

*Hsp60* 家族及小 *Hsp* 家族<sup>[5]</sup>。其中研究最为广泛的是 *Hsp70*, 高温、干旱、低温以及重金属离子等各种胁迫因子均可诱导 *Hsp70* 合成增加<sup>[6]</sup>, *Hsp70* 已成为环境适应性与生物抗性机理研究的一个热点。目前, 国外已从旋尾目、杆形目和垫刃目等线虫中分离出多个 *Hsp70* 基因序列。其中, 仅秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*)、指状丝状虫 (*Setaria digitata*)、班氏吴策线虫 (*Wuchereria bancrofti*)、布氏旋毛虫 (*Trichinella britovi*) 等少数线虫通过文库筛选获得含完整开放阅读框 (ORF) 的 *Hsp70* 基因序列<sup>[4]</sup>。

克隆到 *Hsp70* 基因的全长序列, 有助于揭示该基因的功能, 再进一步将获得的基因进行异源表

收稿日期: 2012-01-12

基金项目: 现代大豆产业技术体系资助项目; 农业部公益性行业 (农业) 科研专项 (200903040-03)。

第一作者简介: 郑雅楠 (1980-), 女, 博士, 讲师, 主要研究方向为植物线虫学和害虫生物防治。E-mail: rockyya@163.com。

通讯作者: 段玉玺 (1964-), 男, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为植物线虫学。E-mail: duanyx6407@163.com。

达,为分析蛋白的性质和功能奠定基础。目前研究者们已经将松材线虫<sup>[4]</sup>、烟粉虱<sup>[7]</sup>和红侧沟茧蜂<sup>[8]</sup>等多种生物体的 Hsps 蛋白在体外进行表达,这些有关 Hsp 蛋白表达的研究,都有助于揭示生物体对环境胁迫的适应性机制。该研究获得了大豆胞囊线虫 *Hsp70* 基因的完整编码区序列,同时将该蛋白原核融合表达到大肠杆菌中,为进一步揭示大豆胞囊线虫环境适应机制奠定基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 供试材料 土壤采集自沈阳农业大学北方线虫研究所试验地,从中筛选得到大豆胞囊线虫 3 号生理小种(*Heterodera glycines* race 3)的胞囊。

1.1.2 主要试剂 TRIZOL Reagent (Invitrogen); Ribonuclease Inhibitor、*EcoR* V 酶、*Dra* I 酶、*Pvu* II 酶、*Stu* I 酶、*Not* I 酶、*Nde* I、T4 连接酶、M-MLV 酶和 *Taq* 酶 (TaKaRa); 凝胶回收试剂盒和质粒提取试剂盒 (Axygen); PGEM-Teasy 载体 (Promega);

pEASY-E1 表达载体和 BL21 (DE3) pLysS、Transetta (DE3) 感受态细胞(北京全式金公司)。

### 1.2 方 法

1.2.1 大豆胞囊线虫 *Hsp70* 基因部分序列的扩增 *Hsp70* 的氨基酸序列含有多个签名序列及高度保守区域,合成简并引物 Hg70-Ds 和 Hg70-Da(表 1),用于扩增 SCN *Hsp70* 部分序列。反应条件为:94℃ 预变性 3 min,94℃ 变性 30 s,55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,30 个循环,最后 72℃ 延伸 10 min。

1.2.2 基因组步移 根据 Universal Genome Walker Kit(Clontech)原理和方法进行基因组步移。基因组 DNA 经限制性内切酶酶切,纯化浓缩后两端加上含有 2 个扩增引物 AP1 和 AP2 的平末端接头,与基因中 2 个特异性引物 GSP1 和 GSP2 构成 2 组特异扩增引物,先用外部的 2 个引物 AP1 和 GSP1 进行第一次扩增,再用内部的 AP2 和 GSP2 进行第二次扩增,扩增出的片段为包含 SCN *Hsp70* 基因未知区域的片段<sup>[9]</sup>。

表 1 合成的引物

Table 1 Oligo nucleotide primers designed in the study

引物名称 Primer name	序列 Sequence(5' - 3')	用途 Use
Adaptor	GTAATACAGTCCACTATAGGGCACGCGTGGTTCGACGGCC CGGGTCGGT	接头
AP1	GTAATACGACTCACTATAGGGC	染色体步移
AP2	ACTATAGGGCACGCGTGGT	染色体步移(巢式)
GSP1	CGA AGTCCTCGCCACCGAGATGAGTGTCA	染色体步移
GSP2	CCA CCGCCCAAGTCGAAAATG AGCACAT	染色体步移(巢式)
Hg70-Ds	GACATGAAG(A)CAC(T)TGCCC	扩增 <i>Hsp70</i> 部分片段
Hg70-Da	TTA GTC C(A)AC TTC T(C)TC G(A)AT	扩增 <i>Hsp70</i> 部分片段
Hg70-RTS	ATGCCATCTAAAGCTAATGC	<i>Hsp70</i> CDS 序列扩增
Hg70-RTA	TTAGTCCACTTCTCTCGATGG	<i>Hsp70</i> CDS 序列扩增

选用 *EcoR* V、*Dra* I、*Pvu* II、*Stu* I 分别对 SCN 总基因组进行酶切,并对酶切产物进行纯化,具体方法参照 Universal Genome Walker Kit(Clontech)进行。将纯化后的基因组 DNA 与接头连接。采用引物 AP1 和 GSP1(表 1)进行基因组步移第一轮扩增反应条件为:94℃ 预变性 25 s,72℃ 延伸 3 min,94℃ 变性 25 s,67℃ 退火 3 min,30 个循环,最后 67℃ 延伸 7 min。第一轮扩增结束后,产物稀释 10 倍作为第二轮扩增的模板,扩增引物为 AP2 和 GSP2(表 1),反应条件同第一轮扩增。

1.2.3 大豆胞囊线虫 *Hsp70* 基因 CDS 序列的克隆 SCN 总 RNA 的提取采用 Trizol 法,取 2 μL 总 RNA 为模板,以 Oligo(dT)为反转录引物,在 1 μL M-MLV 酶催化作用下进行 cDNA 第一链的合成。合成 Hg70-RTS 和 Hg70-RTA 引物,以第一链 cDNA

为模板进行扩增,反应条件为:94℃ 预变性 3 min,94℃ 变性 30 s,50℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,25 个循环,最后 72℃ 延伸 10 min。扩增产物以 2% 琼脂糖凝胶电泳检测和分离,用凝胶回收试剂盒纯化后连接到 PGEM-T easy 载体中,转化 TOP10 感受态细胞,挑取单菌落培养,提取质粒进行 PCR 鉴定,挑选阳性克隆进行序列测定。

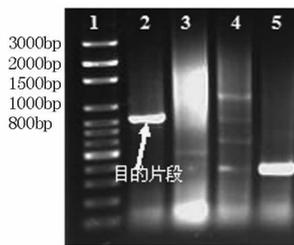
1.2.4 原核表达载体的构建与目的蛋白的诱导表达 将大豆胞囊线虫 *Hsp70* CDS 序列回收产物与 pEASY-E1 载体进行连接,连接产物 42℃ 热激转化到感受态细胞 Trans1-T1 中涂板培养,挑取单克隆培养,以菌液为模板进行 PCR 鉴定,将阳性克隆送公司测序,并进行序列分析。将构建好的表达载体 *Hsp70*pEASY-E1 转化到感受态细胞 Transetta( DE3) 中,涂板培养。挑取转化子接种于含卡那霉素的培

养液中振荡培养至菌液 OD 值约为 0.4~0.6 时,加入 IPTG 使终浓度为 1 mmol·L<sup>-1</sup>时,37℃ 振荡培养 3 h 后离心收集菌体,加入上样缓冲液重悬,进行 SDS-PAGE 电泳分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 部分序列扩增与基因组步移

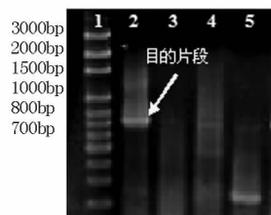
以简并引物 Hg70-Ds 与 Hg70-Da 进行部分序列扩增,PCR 产物经克隆测序后确定产物长度为 2 471 bp。以引物 AP1 和 GSP1 进行第一轮扩增,电泳检测表明以 *Dra* I 酶消化的 DNA 为模板进行扩增后得到约 800 bp 的基因组片段(图 1),第二轮巢式 PCR 扩增的结果得到约 700 bp 的片段(图 2),经克隆测序后确定步移得到 745 bp 的基因组序列。利用 Vector NTI 将步移结果与简并引物克隆结果进行拼接,得到 2 841 bp 的 DNA 序列。用根据该序列设计的引物 Hg70-RTS、Hg70-RTS 扩增 SCN 总 DNA,同样得到 2 841 bp 的序列片段(图 3),且该序列与简并引物扩增序列和 DNA Walking 扩增序列的拼接结果完全一致,这说明简并引物扩增与 DNA Walking 的结果正确可信。



1:分子量标准;2~5 分别以 *Dra* I、*Eco*R V、*Pvu* II 和 *Stu* I 酶切产物为模板  
1;Marker; 2-5 were enzyme *Dra* I, *Stu* I, *Eco*R V and *Pvu* II digested SCN DNA as template, respectively.

图 1 第一轮扩增结果

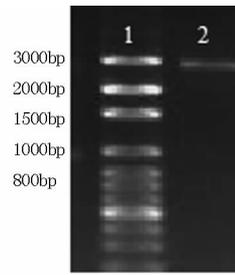
Fig. 1 Primary PCR products



1:分子量标准;2~5 分别以 *Dra* I、*Stu* I、*Eco*R V 和 *Pvu* II 酶切产物为模板  
1;Marker; 2-5 were enzyme *Dra* I, *Stu* I, *Eco*R V and *Pvu* II digested SCN DNA as template, respectively.

图 2 第二轮巢式 PCR 扩增结果

Fig. 2 Result of secondary nested PCR products



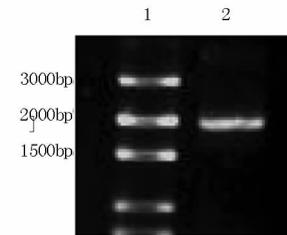
1:标准分子量;2:PCR 产物  
1;Marker; 2: PCR product

图 3 Hg-Hsp-70 DNA 序列扩增结果

Fig. 3 Amplified DNA sequence of *Hsp70* gene

### 2.2 大豆胞囊线虫 *Hsp70* 基因 CDS 序列 (*Hg-Hsp-70*) 的克隆

以大豆胞囊线虫总 RNA 为模板,以 Oligo(dT) 引导反转录,用特异性引物 Hg70-RTS 和 Hg70-RTA 进行 RT-PCR,扩增得到 1 953 bp 的序列片段 (*Hg-Hsp-70* CDS)(图 4)。



1:标准分子量;2:RT-PCR 产物  
1;Marker; 2:RT-PCR product

图 4 *Hg-Hsp-70* 的 RT-PCR 结果

Fig. 4 Result of RT-PCR for *Hg-Hsp-70*

### 2.3 序列分析

对克隆到的 *Hg-Hsp-70* DNA 序列分析表明,该段序列由 9 个外显子与 8 个内含子组成(图 5),外显子大小分别为 104、74、180、361、129、326、157、346 和 276 bp,内含子大小分别为 58、54、221、147、77、92、59 和 180 bp。

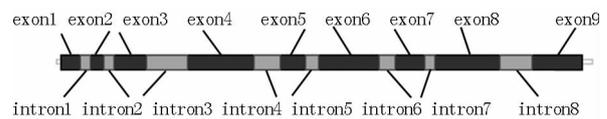


图 5 *Hg-Hsp-70* 基因序列分析

Fig. 5 Analysis of sequence of *Hg-Hsp-70*

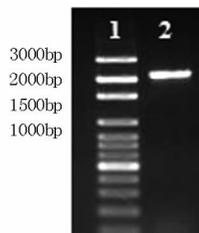
用 Vector NTI 软件分析 *Hg-Hsp-70* CDS 序列,结果表明,大豆胞囊线虫与马来布鲁线虫 (*Brugia malayi*)、班氏吴策线虫 (*Wuchereria bancrofti*)、秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*)、布氏旋毛虫 (*Trichinella britovi*)、拟类圆线虫 (*Parastrongyloides trichosuri*)、指形丝状线虫 (*Setaria digitata*) 及松材线虫 (*Bursaphelenchus xylophilus*) *Hsp70* 基因 CDS 序列的同源性分别为 72.5%、70.6%、71.0%、70.4%、

73.4% 和 75.3%。

氨基酸序列分析表明, *Hg-Hsp-70* 基因编码 650 个氨基酸, 相对分子量为 70.7 kD, 理论等电点 5.26, 具有 *Hsp70* 基因家族的 2 个签名序列: IDLGT-TYS、IFDLGGGTFD; 具有 Dank 特征基序 DLGTT-S-V 及 2 个糖基化位点: NKSI 和 NVSA; 具有靠近 C 端的 GGMP4 肽序列以及 *Hsp70* 特有的 C 末端保守序列 EEVD, 这些特征证明该蛋白属于 *Hsp70* 家族成员。氨基酸序列对比分析表明, *Hg-Hsp-70* 与马来布鲁线虫 (*Brugia malayi*)、班氏吴策线虫 (*Wuchereria bancrofti*)、秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*)、布氏旋毛虫 (*Trichinella britovi*)、拟类圆线虫 (*Parastrongyloides trichosuri*)、指形丝状线虫 (*Setaria digitata*) 及松材线虫 (*Bursaphelenchus xylophilus*) 的同源性分别为 87.3%、87.1%、68.7%、81.1%、88.5%、87.1% 和 88.5%。

#### 2.4 目的蛋白的融合表达

重组表达载体质粒的 PCR 产物约为 2 kb (图 6), 序列测定结果表明: *Hsp70* 基因片段已正确插入了表达载体的插入位点, 开放阅读框 (ORF) 完整, 未发生碱基丢失或移码等情况。质粒 pEASY-*Hsp70* 转化受体菌 *Transetta* (DE3) 经 IPTG 诱导后, 经 SDS-PAGE 电泳分析, 与空载体转化子诱导结果相比, IPTG 终浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 和 1.2  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时均能显著诱导目的蛋白的表达 (图 7)。以终浓度 0.8  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 IPTG 诱导蛋白表达 7 h, 每 1 h 取样 1 次, 蛋白电泳检测结果如图 8 所示, IPTG 诱导 5 h 表达量达到最大值; 诱导时间大于 5 h 后, 目的蛋白在 *Transetta* (DE3) 细胞内的可溶表达量趋于平稳, 未见明显变化。

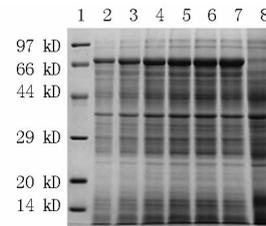


1: 分子量标准; 2: 转化子  
1: Marker; 2: Transformant

图 6 pEASY - *Hsp70* 转化子 PCR 鉴定  
Fig. 6 Identification of pEASY - *Hsp70* transformant by PCR

### 3 讨论

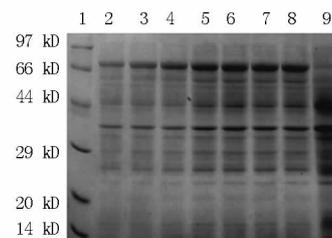
该试验首次克隆了大豆胞囊线虫的 *Hsp70* 基因, 其碱基序列与其它线虫的同源性均在 70% 以上, 同时与其它线虫相比, 其在氨基酸水平上也有



1: 分子量标准; 2~7 分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 和 1.2  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  IPTG 诱导; 8: 空载体转化子诱导  
1: Marker; 2-7 were *Hg-Hsp-70* induced by 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 and 1.2  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  IPTG, respectively; 8: Induced transformant with empty vector

图 7 IPTG 不同诱导浓度对 *Hg-Hsp-70* 蛋白表达的影响

Fig. 7 Effect of inducing concentration of IPTG on protein *Hg-Hsp-70* expression



1: 分子量标准; 2~8 分别为诱导 1、2、3、4、5、6 和 7 h; 9: 空载体转化子诱导  
1: Marker; 2-8 were *Hg-Hsp-70* induced with 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7 h, respectively; 9: Induced transformant with empty vector

图 8 IPTG 不同诱导时间对 *Hg-Hsp-70* 蛋白表达的影响

Fig. 8 Effect of inducing time on protein *Hg-Hsp-70* expression

较高的同源性, 这证实 *Hsp70* 基因在不同的生物中具有很强的保守性。据报道, 不同线虫的 *Hsp70* 氨基酸序列同源性高于 75%<sup>[4]</sup>。该研究氨基酸序列分析结果表明除秀丽隐杆线虫 (68%) 外, 大豆胞囊线虫 *Hsp70* 基因与其它线虫在氨基酸水平上的同源性均在 80% 以上。反映出在不同的真核生物中, *Hsp70* 基因 3 段签名序列氨基酸残基变化很小, 基本保持一致<sup>[4]</sup>。*Hsp70* 的保守性反映了在进化过程中它保持了对生物体生命活动的重要意义, 如 *Hsp-1* 基因沉默能够导致小杆线虫发生母体不育、胚胎致死等恶性反应<sup>[10-11]</sup>。除此之外 *Hsp70* 的保守性还为生物进化分析提供了一定的科学依据, 如通过分析 *Hsp70* 构建的系统发育树, 可以更好地解释物种间进化关系和系统发育<sup>[9]</sup>。大豆胞囊线虫 *Hsp70* 基因的克隆将为从分子生物学角度进一步揭示大豆胞囊线虫的抗逆机制开辟一条新途径。该研究还将克隆得到的 *Hg-Hsp-70* 基因转化到表达载体中, 发现浓度为 0.2 ~ 1.2  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 IPTG 均能显著诱

导目的蛋白的融合表达;以终浓度  $0.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 IPTG 诱导表达 5 h 的表达量达到最大值。重组蛋白的表达将有助于大豆胞囊线虫 *Hsp70* 基因性质及相关功能的研究。有研究表明,秀丽隐杆线虫 (*C. elegans*) 的 *Hsp16-2* 基因<sup>[12]</sup> 等一些分子量热激蛋白通过原核表达使大肠杆菌的耐热性增强,从而对其保护细胞体系在胁迫环境中的作用有了更好的理解。

## 参考文献

- [1] 陈井生,李肖白,李泽宇,等.大豆胞囊线虫的行为及其对环境的适应性[J].黑龙江农业科学,2011(11):47-49. (Chen J S, Li X B, Li Z Y, et al. Behavior and environmental adaptability of the soybean cyst nematode[J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2011(11):47-49.)
- [2] Duan Y X, Zheng Y N, Chen L J, et al. Effects of abiotic environmental factors on soybean cyst nematode[J]. Agricultural Sciences in China, 2009, 8(3):317-325.
- [3] Ritossa F M. A new puffing pattern induced by heat shock and DNP in *Drosophila* [J]. *Experientia*, 1962, 18:571-573.
- [4] 戴素明,成新跃,肖启明,等.松材线虫 *Hsp70* 基因的克隆与原核表达[J].植物病理学报,2007,37(5):512-519. (Dai S M, Cheng X Y, Xiao Q M, et al. Cloning and prokaryotic expression of *Hsp70* from pinewood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*) [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2007, 37(5):512-519.)
- [5] Morimoto R I, Tissieres A, Georgopoulos C. The stress response, function of the proteins, and perspectives [C]//Stress proteins in biology and medicine. Cold Spring Harbor: CSIR Press, 1990: 1-36.
- [6] Sorensen J G, Kristensen T N, Loescheke V. The evolutionary and ecological role of heat shock proteins [J]. *Ecology Letters*, 2003, 6(11):1025-1037.
- [7] 崔旭红,谢明,万方浩.高温胁迫下 B 型烟粉虱热激蛋白基因 *hsp70* 表达量的变化[J].昆虫学报,2007,50(11):1087-1091. (Cui X H, Xie M, Wan F H. Changes in expression level of heat shock protein 70 gene in *Bemisia tabaci* B-biotype (*Homoptera: Aleyrodidae*) under high temperature stress [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2007, 50(11):1087-1091.)
- [8] 殷珍仙.滞育中红侧沟茧蜂 *hsp70* 和 *hsp90* 的克隆与表达[D].扬州:扬州大学,2007. (Yin Z X. Expression of *hsp70* and *hsp90* in diapause microplitis mediator (*Hymenoptera: Braconidae*) [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2007.)
- [9] 郑雅楠.大豆胞囊线虫环境适应性的研究[D].沈阳:沈阳农业大学,2009. (Zheng Y N. Environmental adaptability of soybean cyst nematode (*Heterodera Glycines*) [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2009.)
- [10] Rual J F, Ceron J, Koreth J, et al. Toward improving *Caenorhabditis elegans* phenome mapping with an ORF eome-based RNAi library [J]. *Genome Research*, 2004, 14:2162-2168.
- [11] Sonnichsen B, Koski L B, Walsh A, et al. Full-genome RNAi profiling of early embryogenesis in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nature*, 2005, 434:462-469.
- [12] Leroux M R, Melki R, Gordon B, et al. Structure-function studies on small heat shock protein oligomeric assembly and interaction with unfolded polypeptides [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272(39):24646-24656.

## 作物杂种优势利用国际学术大会 会议消息

为了更好地总结作物杂种优势研究与利用的成果与经验,由中国工程院、国家外国专家局和陕西省人民政府主办,西北农林科技大学承办,“作物杂种优势利用国际学术大会”将于2012年8月19~22日在中国西安召开。

会议宗旨:积极促进作物杂种优势利用领域国际间的学术交流与合作,着力推动作物杂种优势利用科学技术在全球的发展,全面推进作物杂种优势利用产业化进程,为全世界粮食安全和农产品有效供给做出新的更大的贡献。

会议主题:开作物杂种优势利用新时代。会议议题分为3个方面,即:作物杂种优势机理与基础研究,作物杂交种选育理论与技术,杂种作物亲本繁殖与杂交种生产的理论与技术。会议将邀请国内外著名专家作大会报告,并设有高端论坛和分组专题报告与墙报展示。

会议主席:袁隆平院士。

会议网站:<http://icuhc.nwsuaf.edu.cn>。

会议联系人:郭东伟:029-87082942(O), 18792737659(Mobile), icuhc2012@gmail.com

热诚欢迎各位同仁莅临本次盛会。

作物杂种优势利用国际学术大会组委会  
2011年12月20日