
* 综 述 *

藻类分子生物技术两年评 ——基因工程及其上游——分子遗传学*

秦 松 严小军 曾呈奎

(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

提要 根据1992年1月—1994年6月国内外发表资料, 评述藻类分子遗传学和基因工程领域的最新进展。认为: 两年来藻类分子遗传学发展迅速, 经济藻类基因工程研究已经有所突破。藻类学研究正在进入分子时代, 分子生物技术成为推动藻类学研究和藻类资源开发的新动力。

关键词 藻类 分子生物技术 分子遗传学 基因工程

海藻生物技术应是有目的地利用以及定向改造海藻生物体系(包括组织、细胞及其组分)的技术。藻类分子生物技术指有目的地利用以及定向改造藻类分子的有关技术, 包括基因工程、蛋白质工程以及与藻类天然产物开发有关的生物技术。有观点认为, 还应更广义一些, 包括应用于藻类学研究领域的有关分子遗传学技术, 如随机扩增片段多态性分析(RAPD)技术, 差减文库技术等。更早期的有关藻类分子生物技术已有综述(秦松等, 1993)。本文对两年来藻类基因工程及其上游——分子遗传学研究的最新进展和发展趋势予以评述。

1 分子遗传学研究发展迅速

藻类分子遗传学是从分子水平上研究藻类个体发育与系统发育的遗传机制的学科。两年来, 随着藻类学研究本身发展的需要, 以及分子遗传学新技术、新手段的不断涌现, 藻类分子遗传学得到迅速发展, 具体表现在以下几个方面。

1.1 分子系统学研究的种类越来越多, 技术越来越新 通过藻类核酸的分析比较研究藻类系统发生的学科, 称为藻类分子系统学(秦松等, 1993; 秦松, 1994a)。两年前的研究手段, 采用DNA-DNA杂交、限制性酶切分析技术较多。近来的工作, 更多地采用核酸测序的手段, 人们的热点, 逐渐集中到核糖体小亚基rDNA序列(即核编码的18s rRNA基因序列, 约1.8 kb)上。真核藻类核糖体大亚基rRNA包括5.8s和25s两种(Goff et al., 1993), 但据Kooistra等(1992), 后者应为26s。核糖体rDNA在核基因组上排列顺序为: 5'-18s rDNA ITS1 5.8s ITS2 25(或26)s rDNA-3'。一般采用PCR技术扩增18s rDNA, 或间隔序列(ITS1与ITS2), 或rDNA某一部分, 进行测序后比较、分析; 也有人提纯RNA后直接进行RNA测序(Buchheim et

* 秦松, 男, 出生于1968年5月, 博士, 副研究员。

收稿日期: 1995年4月21日, 接受日期: 1995年5月15日。

al., 1992)。两年来利用核糖体核酸序列研究藻类系统发生的报道越来越多(表1)。叶绿体基因组编码的1,5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶(Rubisco)大小亚基基因之间的间隔序列(spacer),也是人们关注的焦点(Goff et al., 1994)。利用PCR技术甚至从保存11年的干的红藻标本的囊果DNA中扩增出可供测序的片段(Goff et al., 1993)。由于从序列差异能更为直接地推算进化上产生分枝的年代,因此核酸测序技术成为研究藻类系统发生和亲缘关系的有力手段。

表1 利用核糖体核酸序列研究系统学的藻类门类

Tab. 1 Algal taxa in which ribosomal nucleic acids have been sequenced

门类	靶序列	文献	备注	
绿藻门	四鞭藻属	部分 rRNA 序列	Buchheim 等(1992)	RNA 测序
	鳞片状有鞭毛绿藻	18s rDNA	Steinkötter 等(1994)	
	绿球藻目(具游孢子)	18s rDNA	Lewis 等(1992)	
	绿球藻目(具游孢子的与具不动孢子的比较)	18s rDNA	Wilcox 等(1992)	
	膜质拟刚毛藻与网结网叶藻	ITS1 与 ITS2	Kooistra 等(1992)	
	小丛藻目与 <i>Gloeotilopsis planctonica</i>	18s rDNA	Friedl 等(1994)	
硅藻门	冠盘藻属	ITS1, ITS2 与 5.8s rDNA	Zechman 等(1994)	
甲藻门	4种共生甲藻	18s rDNA	McNally 等(1994)	
褐藻门	海带目	18s rDNA	Saunders 等(1992)	
红藻门	江蓠目	18s rDNA	Bird 等(1992)	
	江蓠属、龙须菜属	ITS1, ITS2, 5.8s rDNA 与 Rubisco spacer	Goff 等(1994)	
其它	南方轮藻、柔曲丽藻与其它11种含叶绿素 <i>b</i> 藻和6种高等植物	18s rDNA	Ragan 等(1994)	

建立在PCR技术基础上的随机扩增片段多态性分析(RAPD)技术,在90年代初刚刚兴起就被用于藻类分子系统学研究中(Patway et al., 1993; Dutcher et al., 1994)。这种手段更为简便、直观地反映核酸序列间的差异,比测序花费大大减少。Patway 等(1993)首先应用该技术比较了宽叶石花菜(*Gelidium latifolium*)与异形石花菜(*G. vagum*)种间的差异以及后者13个种群之间的差异。指出,只要利用合适的扩增引物,就完全能够建立一套“指纹图谱”(fingerprint)。随后,Dutcher 等(1994)利用该技术研究了三种紫菜的亲缘关系,用随机引物扩增,产生了种群特异的条带。他认为,这种方法还可用于鉴定杂交后代的遗传型,可作为一种比较精细的“指纹图谱”。相信该技术应用将会越来越广。

1.2 质体基因组研究继续深入 先通过绘制限制性内切酶图谱,再用异源探针定位基因,目前已在不少于19种真核藻类中开展了质体基因组图谱绘制工作(表2)。通过图谱的比较从而研究质体的起源与进化,也为有用基因的分离与克隆奠定基础。目前已有约20种基因被定位在质体基因组上。除绿藻外,Rubisco酶大、小亚基基因均由质体基因组编码。16s和23s rRNA也由质体基因组编码。除藻红蛋白的 γ 亚基由核编码外,藻胆蛋白基因均位于质体基因组中,有的不止一个拷贝(Bernard, 1992)。

表2 质体遗传图谱研究概况

Tab.2 Genetic mapping of algal plastid genomes

门	类	作者
绿藻门	莱茵衣藻 <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Rochaix (1982)
	刺松藻 <i>Codium fragile</i>	Manhart 等 (1989)
	大形水绵 <i>Spirogyra maxima</i>	Manhart (1990)
硅藻门	<i>Odontella sinensis</i>	Kowallik (1989)
	格式圆筛藻 <i>Coscinodiscus granii</i>	Kowallik (1989)
	梅尼小环藻 <i>Cyclotella meneghiniana</i>	Bourne (1992)
隐藻门	<i>Cryptomonas</i> φ	Douglas (1988)
	<i>Pyrenomonas salina</i>	Maerz 等 (1992)
红藻门	条斑紫菜 <i>Porphyra yezoensis</i>	Shivji 等 (1991)
	<i>P. purpurea</i>	Reith 等 (1993)
	脐形紫菜 <i>P. umbilicalis</i>	Reith (1993)
金藻门	<i>Ochromonas danica</i>	Cattolico 等 (1989)
	<i>Olisthodiscus luteus</i>	Reith 等 (1986) Shivji 等 (1992)
褐藻门	网地藻 <i>Dictyota dichotoma</i>	Kuhse 等 (1987)
	间囊藻 <i>Pylaiella littoralis</i>	Loiseaux-de Goëtz 等 (1988)
黄藻门	无柄无隔藻 <i>Vaucheria sessilis</i>	Linne von Berg 等 (1988)
争议种	<i>Cyanophora paradoxa</i>	Lambert (1985)
其它	黄群藻 <i>Synura petersemi</i>	Wee (1993)

1.3 克隆了一批新基因并得到应用 两年来对30余种编码功能的藻类基因进行了分离、克隆、测序以及表达调控研究(表3)。蓝藻和绿藻中的衣藻已成为基因调控研究的模型。另外,红藻、硅藻、隐藻、金藻基因均被克隆、定序,表达调控研究也将相继开展。与光合作用有关的基因,研究得最多。差减文库技术已用于红藻世代特异表达基因的分离中。Liu等(1994)建立了紫菜 *Porphyra purpurea* 配子体和孢子体的cDNA文库,通过差减杂交的办法,在每个文库中找出了各占总数约8%—10%的与特定发育时期相关的克隆。进一步在孢子体文库中找到了8个、在配子体文库中找到了7个世代特异性表达的cDNA序列,通过查基因序列库(genebank),各有两个序列找到了同源蛋白。分子遗传学各种手段,如基因分离、克隆、测序、定位突变、差减文库等的应用,

表3 两年来新克隆的藻类基因
Tab.3 New algal genes cloned in the past two years

门类	藻类基因 (英文缩写及其编码产物)	研究内容	参考文献
蓝藻	cox (细胞色素c 氧化酶)	序列、功能	Holzmluler 等 (1992)
	plastocyanin (质体蓝素)	调控	Holzmluler 等 (1992)
	a copper protein (一种铜结合蛋白)	调控	Holzmluler 等 (1992)
	frx 同源基因 (固氧酶铁蛋白)	序列、功能	秦松 (1993)
	ORF 467 (与叶绿素合成有关)	序列、功能	秦松 (1993)
	CAs (碳酸酐酶)	序列	秦松 (1993)
	cmp (42KD 膜蛋白)	序列	秦松 (1993)
	nrt (氮运输有关基因簇)	序列	秦松 (1993)
藻	rca (调控基因)	序列	秦松 (1993)
	nir (亚硝酸盐还原酶)	调控	秦松 (1993)
	rpo (调控基因)	序列	秦松 (1993)
	pys (八氢蕃茄红素合成酶)	定位突变	秦松 (1993)
	pds (八氢蕃茄红素脱氢酶)	定位突变	秦松 (1993)
	c-型细胞色素基因	序列、突变	秦松 (1993)
	绿藻	rbc L (Rubisco 酶大亚基, 位于叶绿体基因组)	序列、调控
rbc S (Rubisco 酶小亚基, 位于核基因组)		同上	Fujiwara 等 (1993)
cab (叶绿素a/b 结合蛋白, 位于叶绿体基因组)		调控	秦松 (1993)
rps7, 12 (核糖体小亚基蛋白, 位于叶绿体基因组)		序列	Lew 等 (1993)
NADP-GDH (辅酶 II 特异谷氨酸脱氢酶, 位于核基因组)		调控	Miller 等 (1994)
NIT2 (调控基因, 位于核基因组)		克隆、突变	Lefebvre 等 (1994)
β , 2-微管蛋白基因等, 位于核基因组		序列	Zhang 等 (1994)
psb (光系统 II 多肽)		定位突变	秦松 (1993)
硅藻	岩藻黄素 a/c 蛋白复合物基因, 位于核基因组	序列	Apt 等 (1994)
	atp (ATP 酶, 位于核基因组)	序列	Pancic 等 (1992)
	nar (硝酸盐还原酶, 位于核基因组)	序列	Smith 等 (1992)
	乙酰辅酶 A 羧化酶基因, 位于核基因组	序列	Roessler 等 (1993)
	ORF 217/218 (位于质粒基因组)	序列	Hildebrand 等 (1992)
红藻	cpc (藻蓝蛋白, 两个亚基均由叶绿体基因组编码)	序列、转录	Apt 等 (1993a)
	cpe (藻红蛋白, α , β 亚基由叶绿体编码, γ 亚基由核编码)	序列	Bernard (1992)
	fab (由叶绿体编码)	序列	Reith (1993)
	apc (别藻蓝蛋白, 两个亚基均由叶绿体编码)	序列	Apt 等 (1993b)

带动了藻类光合作用、起源和进化、形态发生、生理生化等基础研究的发展。同时藻类基因的应用研究正在深入开展中。作为藻类基因工程的目的基因目前有两个,一个是日本 Murate 实验室从蓝藻 *Synechocystis* PCC6803 中克隆的植物型脂肪酸脱饱和酶基因,用于抗冷蓝藻的培育 (Wada et al., 1992); 另一个是本文作者从钝顶螺旋藻中克隆的别藻蓝蛋白基因,将用大型海藻作为廉价高效反应器来表达¹⁾。Bryant 等 (1985) 曾在大肠杆菌中成功地表达了蓝藻 *Synechococcus* PCC7002 藻蓝蛋白基因,以及真核藻 *Cyanophora paradoxa* 别藻蓝蛋白基因,并用大肠杆菌表达的藻胆蛋白亚基与不同的色素基因共价结合,以期人工构建荧光探针 (Glazer, 1994)。本文作者在大肠杆菌中高效表达了钝顶螺旋藻别藻蓝蛋白-细菌麦芽糖结合蛋白 (融合蛋白)²⁾。经动物实验,证明基因工程生产的融合蛋白,具有显著的抑制肿瘤、延长生命的生物活性,且比天然藻蓝蛋白效果显著²⁾。用基因工程生产藻类活性多肽,具有广阔的应用前景。

1.4 单细胞藻基因转移系统日趋成熟,大型藻类有所突破 目前向蓝藻中导入外源基因的方法有两种,一种是遗传转化 (genetic transformation),包括天然转化、诱导转化和电击穿孔 (electroporation) (王业勤等, 1991; 秦松等, 1993; 秦松等, 1994a; Elhai, 1994); 另一种是接合转移 (conjugation)。

天然转化是指一些单细胞蓝藻能够有效地吸纳外源 DNA (Elhai, 1994); 诱导转化是指通过人工诱导感受态引入外源 DNA, 如 *Synechocystis* PCC 6308, 可用 Ca^{2+} 诱导人工感受态 (秦松等, 1994a)。

接合转移是向丝状蓝藻引入外源 DNA 的有效系统,需先构建含有目的基因、*E. coli* 质粒的复制起点及转移起点 (ori T) 和选择标记的杂交质粒,转化含有辅助质粒 (有识别 ori T 的基因) 的 *E. coli* 菌株,再通过接合引入一个 Inc P 接合质粒 (如 RP4, 具有编码接合装置的基因),使 3 种质粒位于同一宿主,然后与受体藻株混合,通过抗生素筛选获得抗性藻落。辅助质粒、接合质粒由于无法复制或整合而逐渐丢失,杂交质粒若含有蓝藻质粒复制起点,能够以复制于形式独立存在,还可能与蓝藻内源质粒发生同源重组或与染色体同源重组而稳定存在 (Elhai, 1994)。由于 Inc Q 质粒能不依赖辅助质粒而识别 ori T,并形成缺口 (nick),在许多蓝藻中能稳定存在,因此具有应用潜力 (Sode et al., 1992)。

整合的方式有 3 种: 双交换、单交换以及转座。同源部分发生双交换能造成基因置换,可用来进行定位突变研究。单交换并不造成置换,而产生部分二倍体 (partial diploid),可用于把报告基因和目的基因融合在一起。另外,自然地或人工地可通过转座子将选择标记随机地插入染色体 DNA 而产生一系列突变 (Elhai, 1994)。

除蓝藻外,莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) 成为分子遗传学研究的常用材料。莱茵衣藻目前已成为唯一的染色体、叶绿体和线粒体 3 套基因组均能遗传转化的植物 (Kindle et al., 1994)。染色体转化最简便、最有效的方法为玻璃珠研磨 (Bingham

1) 秦松, 1994. Molecular cloning and expression of the allophycocyanin gene in *E. coli*, 中国科学院海洋研究所博士学位论文, 4.1—4.11。

2) 秦松等, 1994. 基因工程生产融合别藻蓝蛋白抗肿瘤活性研究, 第四次中国海洋湖沼药物学术开发研讨会论文集, 106—107。

et al., 1994), 但必须选用细胞壁缺失突变株或先用配子自溶素 (gamete autolysin) 消化去壁。筛选的方法, 一般采用互补 (complementary)。选用营养缺陷、光合作用缺陷或鞭毛缺失突变株, 转化野生型基因, 再利用局限营养、光合生长、运动等特性筛选转化子。Hall 等 (1993) 用 nos:npt 嵌合基因转化, 采用玻璃珠研磨法, 用双选择标记筛选, 硝酸盐筛选的转化子中 52% 对卡那霉素具有抗性。

目前叶绿体转化最有效的方法是基因枪法 (Bingham et al., 1994)。用光合互补或转化内源 rDNA 基因 (编码对链霉素、壮观霉素、红霉素等的抗性) 筛选转化子, 或用 psb A 基因编码的对除草剂的抗性、tsc A 基因编码的反式剪切功能以及一些光合基因作选择标记 (Kindle et al., 1994)。大部分叶绿体蛋白由染色体基因编码, 在胞液中合成后转运入叶绿体中。由于叶绿体基因的拷贝数 (100—10 000) 比染色体基因的拷贝数 (1—2) 高得多, 因此将染色体基因转入叶绿体基因组, 就有可能获得高表达。需要弄清的问题, 一是叶绿体基因表达调控的机制, 二是基因拷贝数对其表达有所影响。目前成为研究热点。

大型藻类的转化成为另一个热点。在第五届国际藻类学大会分子生物学专题讨论会 4 个报告中, 有一个报告涉及用基因枪将 pBI 221 质粒导入海带和裙带菜获得瞬间表达的结果 (秦松等, 1994b), 证明了 CaMV 35 S 启动子在褐藻中的通用性, 这是大型海藻遗传转化的第一篇正式报道。在墙报组中, 王素娟等报道了用电击法将 pBI 121 质粒导入坛紫菜原生质体中获得瞬间表达¹⁾, 继 Cheney 等 (1992)²⁾ 后再次证实了 CaMV 35 S 启动子在红藻中的通用。另外 Cheney 等 (1992) 还发现 nos 启动子通用, cab 启动子不通用。

1.5 在经济藻类中分离到质粒, 对质粒功能有了进一步了解 两年来, 质粒研究有两大进展。一是在一些经济藻类中发现了质粒, 如钝顶螺旋藻 (Qin et al., 1993; 秦松等, 1994d)、真江蓠 (秦松等, 1994e, 为中国特产), 对经济藻类的基因工程改良具有积极意义; 二是对硅藻质粒进行了深入研究, 在细柱藻 (*Cylindrotheca fusiformis*) 中定序了两个质粒 pCf1 和 pCf2, pCf1 为 4.27kb, pCf2 为 4.08kb。pCf1 的 ORF 218 与 pCf2 的 ORF 217 氨基酸同源性为 80%; pCf1 的 ORF 482 与 pCf2 的 ORF 484 氨基酸同源性为 54%。ORF 218/217 与 Tn 3 转座子的解体酶 (resolvase) 氨基酸同源性为 28%—31%, 但二质粒不具有转座活性, 另一个可能的功能是 ORF 218/217 编码的解体酶使质粒由多聚体解为单体 (Hildebrand et al., 1992)。

2 基因工程研究已向应用目标迈进

在分子遗传学理论上, 通过重组 DNA 技术人工构建藻类新品种, 以及实现藻类天然产物的基因工程生产, 是藻类基因工程研究的两大目标, 两年来取得了重要突破。

2.1 蓝藻基因的细菌表达 用于生产限制性内切酶商品、构建人工发光物以及生产

1) Wang, S. J. et al., 1994, Research of direct gene transfer in the cell of *Porphyra haitanensis*, Abstracts, 5th International Phycological Congress, Qingdao, China, No. 250.

2) Cheney, D. P. et al., 1992, Progress in protoplast fusion and gene transfer in red algae, Abstracts, XIVth International Seaweed Symposium, Brittany, France, No. 061.

抗肿瘤活性多肽,在前面(1.3)已有叙述。

2.2 外源基因表达系统——蓝藻 来自芽孢杆菌的杀幼蚊毒素基因(Stevens et al., 1994; Xu et al., 1993),来自小鼠的金属硫蛋白-I cDNA(孙军等,1994),来自蓝藻的植物型脂肪酸脱饱和酶基因(Wada et al., 1992),以及来自人的超氧化物歧化酶(SOD)基因(日本专利3076583号;国际专利9216641号)均已在蓝藻中得到表达,以期获得杀幼蚊蓝藻、清除重金属蓝藻、耐低温蓝藻新品系,以及利用蓝藻作为大量生产SOD的生物反应器。本文作者正与日本国立研究院合作,进行螺旋藻的基因工程研究,目前转化方法,选择标记都已找到,正在进行载体构建研究。

2.3 大型海藻基因工程研究方兴未艾 除藻胆蛋白基因(秦松,1994b)外,缺少有用的目的基因。遗传转化的模式系统正在建立,本文作者发现,海带、裙带菜对卡那霉素并不敏感,而对氯霉素敏感¹⁾,最近用基因枪方法转化的CAT基因在海带中已获得稳定表达²⁾。国外最近发现,病毒可作为褐藻基因工程的载体,为褐藻基因工程提供了新途径。红藻(如紫菜)病害成为制约栽培业发展的限制因素之一,真菌Pythium病是常见病,本文作者正着手从其拮抗菌中分离基因,并构建红藻与细菌的双向质粒。

两年来藻类基因工程得到迅速发展,特别是海带、紫菜、螺旋藻等经济藻类的基因工程研究,对培育优质、高产新品种,发展海洋药物都具有十分重要的意义。藻类的基因可用其它生物的反应器生产,以克服藻类生物量、养殖成本以及天然产物提纯困难等不足;通过基因工程操作藻类还有希望成为生产有用产品以及清除污染的生物反应器,例如海带是廉价高效的生物反应器,海带遗传转化模型的建立是基础,下一步将用基因工程手段使其成为表达螺旋藻藻胆蛋白(亚基)的反应器,实现向海洋要蛋白的目标。山东省寄生虫病研究所和北京大学的鱼腥藻基因工程研究,上海水产大学的紫菜基因工程研究,表明了我国学者在藻类基因工程领域处于国际先进水平,相信会对我国国民经济的发展做出贡献。

参 考 文 献

- 孙 军等,1994,生物工程进展,14(6):39—42。
秦 松,1993,海洋与湖沼,24(6):656—663。
秦 松、曾呈奎,1993,海洋科学,1:34—37;2:24—27。
秦 松等,1994a,藻类的遗传转化,植物遗传转化技术手册,中国科学技术出版社(北京),79—82。
秦 松等,1994b,海洋与湖沼,25(4):354—356。
秦 松等,1994c,海洋与湖沼,25(5):560—563。
秦 松等,1994d,海洋与湖沼,25(4):349—352。
Apt, K. E., Grossman, A. R., 1993a, *Plant Mol. Biol.*, 21: 27—38。
Apt, K. E., Grossman, A. R., 1993b, *J. Phycol.*, 29: 716—718。
Apt, K. E. et al., 1994, *J. Appl. Phycol.*, 6: 225—230。
Bernard, C., 1992, *British Phycol. J.*, 27(1): 84。
Bingham, S. E., Webber, A. N., 1994, *J. Appl. Phycol.*, 6: 239—245。

1) 武建秋等,1994,海带基因工程选择标记的研究,海洋科学。(待发表)

2) 秦松等,1995,未发表资料。

- Bird, C. J. et al., 1992, *Phycologia*, **31**: 510—522.
- Bourne, C. M., 1992, *J. Phycol.*, **28**: 347—355.
- Buchheim, M. A., Chapman, R. L., 1992, *J. Phycol.*, **28**: 362—374.
- Dutcher, J. A., Kapraun, D. F., 1994, *J. Appl. Phycol.*, **6**: 267—273.
- Elhai, J., 1994, *J. Appl. Phycol.*, **6**: 177—186.
- Friedl, T., Zeltner, C., 1994, *J. Phycol.*, **30**: 500—506.
- Fujiwara, S. et al., 1993, *J. Phycol.*, **29**: 347—355.
- Glazer, A. N., 1994, *J. Appl. Phycol.*, **6**: 105—112.
- Goff, L. J., Moon, D. A., 1993, *J. Phycol.*, **29**: 381—384.
- Goff, L. J. et al., 1994, *J. Phycol.*, **30**: 521—537.
- Hall, L. M. et al., 1993, *Gene*, **124**(1): 75—81.
- Hildebrand, M. et al., 1992, *Plant Mol. Biol.*, **19**: 759—770.
- Holzmüller, U., Kaplan, A., 1992, *Appl. Phycol. Forum*, **9**(2): 6—7.
- Kindle, K. L., Sodeinde, O. A., 1994, *J. Appl. Phycol.*, **6**: 231—238.
- Kooistra, W. H. C. et al., 1992, *J. Phycol.*, **28**: 660—668.
- Lefebvre, P. et al., 1994, *J. Appl. Phycol.*, **6**: 255—256.
- Lew, K. A., Manhart, J. R., 1993, *J. Phycol.*, **29**: 500—505.
- Lewis, L. A. et al., 1992, *J. Phycol.*, **28**: 375—380.
- Liu, Q. Y. et al., 1994, *J. Phycol.*, **30**: 513—520.
- MacNally, et al., 1994, *J. Phycol.*, **30**: 316—329.
- Miller, P. W. et al., 1994, *J. Appl. Phycol.*, **6**: 211—223.
- Pancic, P. G. et al., 1992, *J. Mol. Biol.*, **224**: 529—536.
- Patway, M. U. et al., 1993, *J. Phycol.*, **29**: 216—222.
- Qin, S. et al., 1993, *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, **11**(3): 285—288.
- Ragan, M. A. et al., 1994, *J. Phycol.*, **30**: 490—500.
- Reith, M., 1993, *Plant Mol. Biol.*, **21**: 185—189.
- Reith, M., Munholland, J., 1993, *Plant Cell*, **5**: 465—475.
- Roessler, P. G., Ohlrogge, J. B., 1993, *J. Biol. Chem.*, **268**: 19254—19259.
- Saunders, G. W., Druehl, L. D., 1992, *J. Phycol.*, **28**: 544—549.
- Shivji, M. S. et al., 1991, *Mol. Gen. Genet.*, **232**: 65—73.
- Smith, G. J. et al., 1992, *Limnol. Oceanogr.*, **37**: 989—1007.
- Sode, K. et al., 1992, *Microbiol. Lett.*, **99**: 73—78.
- Steinkötter, et al., 1994, *J. Phycol.*, **30**: 340—345.
- Stevens, S. E. et al., 1994, *J. Appl. Phycol.*, **6**: 187—197.
- Wada, H. et al., 1992, *Plant Cell Physiol.*, **33**(5): 535—540.
- Wee, J. L., 1993, *J. Phycol.*, **29**: 96—99.
- Wilcox, L. W. et al., 1992, *J. Phycol.*, **28**: 381—386.
- Xu, X. et al., 1993, *FEMS Lett.*, **107**: 247—250.
- Zechman, F. W. et al., 1994, *J. Phycol.*, **30**: 507—512.
- Zhang, H. et al., 1994, *J. Appl. Phycol.*, **6**: 255—256.

TWO-YEAR REVIEW ON ALGAL MOLECULAR BIOTECHNOLOGY — MOLECULAR GENETICS AND GENETIC ENGINEERING

Qin Song, Yan Xiaojun, Zeng Chengkui (C. K. Tseng)

(*Institute of Oceanology, Chinese Academy of Science, Qingdao 266071*)

Abstract Development of algal molecular genetics and genetic engineering studies from Jan., 1992 to June, 1994 is reviewed in this paper. Researches in algal molecular genetics developed rapidly in the past two years. Genetic engineering of economically valuable algae is also progressing very fast. The results of this study on plasmids from *Spirulina platensis* and the agarophyte *Gracilaria asiatica*, studied by the authors, will be used to construct vectors for genetic engineering. Biolistics was proved by us as an effective method to introduce foreign genes into kelp cells where their stable expression was observed. We also found that kelp was very sensitive to chloramphenicol, and that CAT gene was a useful selective marker. The work is still progressing. Both fundamental phycology study and algal resource exploitation are being advanced to a new stage by algal molecular biotechnology.

Key words Algae Molecular biotechnology Molecular genetics Genetic engineering