

木薯 *ftsZ* 基因分离及在原核生物中功能初步鉴定\*耿梦婷<sup>1,2</sup> 姚远<sup>1,2</sup> 胡新文<sup>1</sup> 郭建春<sup>2</sup> 闵义<sup>1,2\*\*</sup>

(1 海南大学 海口 570228 2 中国热带农业科学院生物技术研究所 海口 571101)

**摘要** *ftsZ* 基因是控制细胞分裂的关键基因,其蛋白能够在分裂位点形成一个环状结构而影响细胞分裂。为了研究木薯质体分裂与木薯淀粉品质形成的关系,根据木薯基因组数据库上的预测序列,设计引物,从木薯基因组中分离了与质体分裂相关的 *ftsZ* 家族 3 个新基因(*ftsZ1*, *ftsZ2*, *ftsZ3*)。分别将它们与荧光蛋白基因(*GFP*)融合,构建了 3 个原核表达载体 pET-*ftsZ1-GFP*、pET-*ftsZ2-GFP*、pET-*ftsZ3-GFP* 并转化大肠杆菌 BL21(DE3)。通过荧光显微镜观察菌体的表型和分裂,初步鉴定了木薯质体分裂相关基因 *ftsZ* 家族对细胞分裂的作用。结果显示:尽管木薯与大肠杆菌的亲缘关系较远, *ftsZ* 基因的同源性较低,但是两者表现出相似的功能,木薯 *ftsZ* 基因的表达能严重影响大肠杆菌细胞分裂。这一结果为进一步研究木薯 *ftsZ* 家族基因的功能奠定了基础。

**关键词** 木薯 *ftsZ* 基因家族 大肠杆菌表达 细胞分裂

中图分类号 Q781

*ftsZ* (filamenting temperature sensitive Z) 是从大肠杆菌的一种温度敏感型突变体菌株中分离得到的基因<sup>[1]</sup>。自从 1980 年第一次克隆到该基因后<sup>[2]</sup>,又在多种生物中得到了 *ftsZ* 基因的片段。研究表明,在正常的细胞分裂周期中, *ftsZ* 基因发挥着不可替代的作用。FtsZ 蛋白一般在细胞分裂位点的位置聚集形成一个环状多聚体(Z)环,这样的环引发并控制原核生物的细胞分裂的全过程。如果胞内 *ftsZ* 基因的表达出现异常,就会导致细胞分裂受阻,同时有可能形成不分裂的长丝状细胞<sup>[3-5]</sup>。FtsZ 蛋白作为原核细胞的一种骨架蛋白,与真核生物的微管蛋白具有共同的进化祖先<sup>[6]</sup>。在细菌、古细菌中广泛存在 *ftsZ* 基因,其在进化上非常保守<sup>[7-8]</sup>。后来,研究发现,植物细胞的质体也利用 FtsZ 蛋白进行分裂。但与细菌中仅含有单一拷贝的 *ftsZ* 基因不同,植物中的 *ftsZ* 基因已经进化为 2 个不同的家族,每种植物至少含有 2 个以上的 *ftsZ* 基因,并且在有的植物中形成聚体以加强作用<sup>[9-16]</sup>,如:拟南芥中

的 2 个 FtsZ 蛋白在组装前会形成低聚体的状态<sup>[17]</sup>。

质体作为陆地植物具有的最显著特征,是植物代谢的重要组成,除作为细胞叶绿体光合作用的场所,还承载了淀粉、脂肪酸、氨基酸、核酸以及某些可溶性蛋白等重要产物的代谢活动<sup>[18]</sup>。按照质体内含物和结构的不同,质体分为:有色体、无色体、叶绿体、淀粉质体、脂肪体、蛋白体等。质体是真核细胞中具有半自主性的细胞器,因此质体能在核编码的蛋白指导下进行自我分裂。质体分裂蛋白包括 FtsZ、minD 和 minE 等蛋白质家族。质体的正常分裂增殖保证了细胞分裂过程中质体存在的比例和连续性,对维持细胞正常功能极其重要,研究其分裂具有重要的意义。质体分裂包括淀粉体在内,是一个高度集成的多蛋白参与的过程,质体分裂过程中任何分裂元件的变化都有可能影响质体形态和分裂增殖发育,所以,淀粉体的分裂增殖发育势必会影响到淀粉累积效率和淀粉粒形态和性质。相关研究发现 *ftsZ* 基因的过量表达或反义抑制都会改变质体的数目和形态<sup>[10-20]</sup>。因此推断,通过改变以淀粉为主要产量的农作物质体分裂也可以作为它们品质改良的一种方法。鉴于淀粉是木薯主要贮藏能量,其颗粒大小严重影响它们的品质。为了探讨木薯 *ftsZ* 基因在木薯淀粉分裂和品质形成中的作用,我们从木薯基

收稿日期: 2012-10-10 修回日期: 2013-02-26

\* 国家“973 计划”(2010CB126600)、国家自然科学基金(31160061)、木薯现代产业科技体系项目“211 工程”热带作物遗传育种与生态保育创新人才培养基金青年教师项目(QNJS-2011-12)资助项目

\*\*通讯作者, 电子信箱: minyi0723@126.com

因组中分离到 *ftsZ* 基因家族的 3 个同源新基因,并命名为 *ftsZ1* (JN936179)、*ftsZ2* (JN936180)、*ftsZ3* (JQ343216)。为了鉴定它们的功能,我们首先将它们与荧光蛋白 GFP 融合,之后构建了他们的原核表达载体,最后转化到大肠杆菌中,经过诱导表达,观察菌体的变形,对基因的功能进行初步的研究探索,为进一步研究它们的功能奠定了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

用于木薯 *ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* 全长基因与 GFP 融合的表达载体 pCAMBIA1304、大肠杆菌 (*Escherichia coli*) DH5 $\alpha$ 、BL21 (DE3) 菌株、pET-30(a) 载体均由本实验室保存。Taq DNA 聚合酶、各种限制性内切酶、连接酶购自 Fermentas 公司。PCR 引物由上海生工公司合成, dNTP 与 PCR 产物纯化回收试剂盒购自爱思进生物技术(杭州)有限公司。其他试剂购自东盛、天恩泽、生工等公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 *ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* 基因的分离 本实验室已克隆获得木薯 *ftsZ1* (基因登陆号: JN936179)、*ftsZ2* (基因登陆号: JN936180)、*ftsZ3* (基因登陆号: JQ343216) 基因。*ftsZ1* 基因大小为 1 449bp, CDS 为 1 248bp, 编码 415 个氨基酸; *ftsZ2* 基因大小为 1 591bp, CDS 为 1 458bp, 编码 485 个氨基酸; *ftsZ3* 基因大小为 1 639bp, CDS 为 1 455bp, 编码 484 个氨基酸; 3 个基因编码的氨基酸序列相似性为 73.4%。采用宝生物工程公司的 PrimeScript<sup>®</sup> RT reagent Kit Perfect Real Time 试剂盒逆转录合成 cDNA, 再以 cDNA 为模板 PCR 扩增, PCR 产物经过凝胶电泳回收, 克隆到 pMD<sup>®</sup> 19-T 载体上, 筛选不同的阳性克隆送大连宝生物公司测序, 经过序列比对分析得到正确的基因序列。

1.2.2 原核表达载体的构建及重组质粒的鉴定 根据所克隆得到的基因序列, 以及 pCAMBIA1304 上的酶切位点设计引物, 分别在基因的两端加上适当的酶切位点, 再将扩增产物克隆到 pCAMBIA1304 载体上, 筛选出不同的阳性克隆测序。再次根据 *ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* cDNA 序列设计上游引物 F1-P、F2-P、F3-P, 在上游引物 5' 端加上 BamH I 酶切位点。根据 pCAMBIA1304 的 *mgfp* 序列设计下游引物 GFP, 在下游引物的 5' 端加上 Hind III 酶切位点。各引物序列如下:

F1-P: CGGGATCCATGGCGACACTTCATCTTC

F2-P: CGGGATCCATGGCAGCTTGTGTGTC

F3-P: CGGGATCCATGGCAGCCTGTCTGT

GFP: GGGAAGCTTTTAAGCTTTGTATAGTTC

扩增 *ftsZ1-GFP*、*ftsZ2-GFP*、*ftsZ3-GFP* 的 PCR 反应条件为: 以 pCAMBIA1304-*ftsZ1*、pCAMBIA1304-*ftsZ2*、pCAMBIA1304-*ftsZ3* 为模板, 预变性 3 min; 然后 94 $^{\circ}$ C 45 s, 58 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 3 min, 共进行 30 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。PCR 产物经 PCR 产物纯化回收试剂盒纯化回收后, 以 BamH + Hind III 双酶切, 再经纯化回收试剂盒纯化回收酶切产物, 连接到同样经过 BamH + Hind III 双酶切的 pET-30(a) 载体上, 转化大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态, 在选择培养基上筛选阳性重组子, 提取质粒并用 BamH I + Hind III 双酶切检测。然后将检测正确的质粒转化 BL21(DE3) 感受态, 筛选阳性重组子。

1.2.3 原核表达载体在大肠杆菌 BL21 (DE3) 中的表达与显微观察 将转化有融合 *ftsZ1-GFP*、*ftsZ2-GFP*、*ftsZ3-GFP* 的重组质粒的大肠杆菌 BL21 (DE3) 在 LB 培养基(含 50 mg/L Kanamycin) 上培养后, 挑取单菌落 37 $^{\circ}$ C 过夜培养, 次日分别转移到新的液体培养基于 37 $^{\circ}$ C 培养到 OD 值 0.6~0.8 之间, 然后加入 IPTG 诱导 5h。同时对转化有 pET-30(a) 空白质粒的大肠杆菌 BL21 (DE3) 做同样的处理, 以作为对照。取 1ml 菌液离心制样用于 SDS-PAGE 电泳观察重组蛋白的表达量。将上述处理的 BL21 (DE3) 细菌培养物滴在载片上, 压片后采用蓝光激发进行荧光观察; 将上述处理的 BL21 (DE3) 空菌株培养物稀释后滴在载玻片上, 用酒精灯烘烤固定菌体, 压片观察细菌形态。同时, 用平板菌落计数法统计菌落数, 定量分析 *ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* 基因对大肠杆菌分裂的影响。

## 2 结果

### 2.1 *ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* 基因的分离

我们从木薯基因组中分离得到的 *ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* 基因大小分别为 1 449bp、1 591bp、1 639bp。基因序列已登录在 GenBank 上, 登录号为 *ftsZ1* (JN936179)、*ftsZ2* (JN936180)、*ftsZ3* (JQ343216) 如图 1 所示。

### 2.2 原核表达载体的构建与重组质粒的鉴定

GFP 基因在 pCAMBIA1304 载体上, 其大小为 729bp, 从木薯基因组中分离得到的 *ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* 基因, 其基因阅读框架分别为 1 248bp、1 502bp、1 455bp。通过 PCR 扩增的 *ftsZ1-GFP*、*ftsZ2-GFP*、*ftsZ3-*

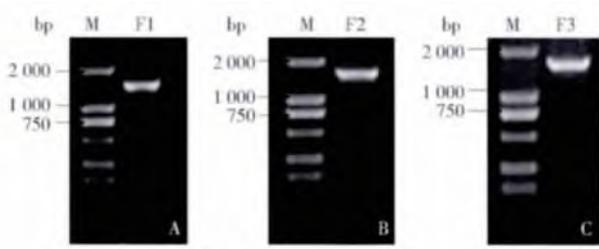


图1 *ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* 基因 PCR 结果

Fig.1 The PCR result of *ftsZ1* ,*ftsZ2* ,*ftsZ3* genes

M: DNA marker; A: *ftsZ1*gene; B: *ftsZ2*gene; C: *ftsZ3* gene

*GFP* 的长度分别为 1 974 bp、2 187 bp、2 184 bp ,其大小与理论推断吻合。将扩增到的片段用 *Bam*H I + *Hind* III 双酶切后连接到 pET-30( a) 载体上 ,然后用 *Bam*H I + *Hind* III 双酶切鉴定 ,得到的 DNA 与理论推断长度一致。DNA 测序证明重组质粒的阅读框正确 ,整个基因序列没有发生突变。表达质粒构建的物理过程如图 2 所示 ,PCR 及重组质粒的酶切鉴定结果见图 3。

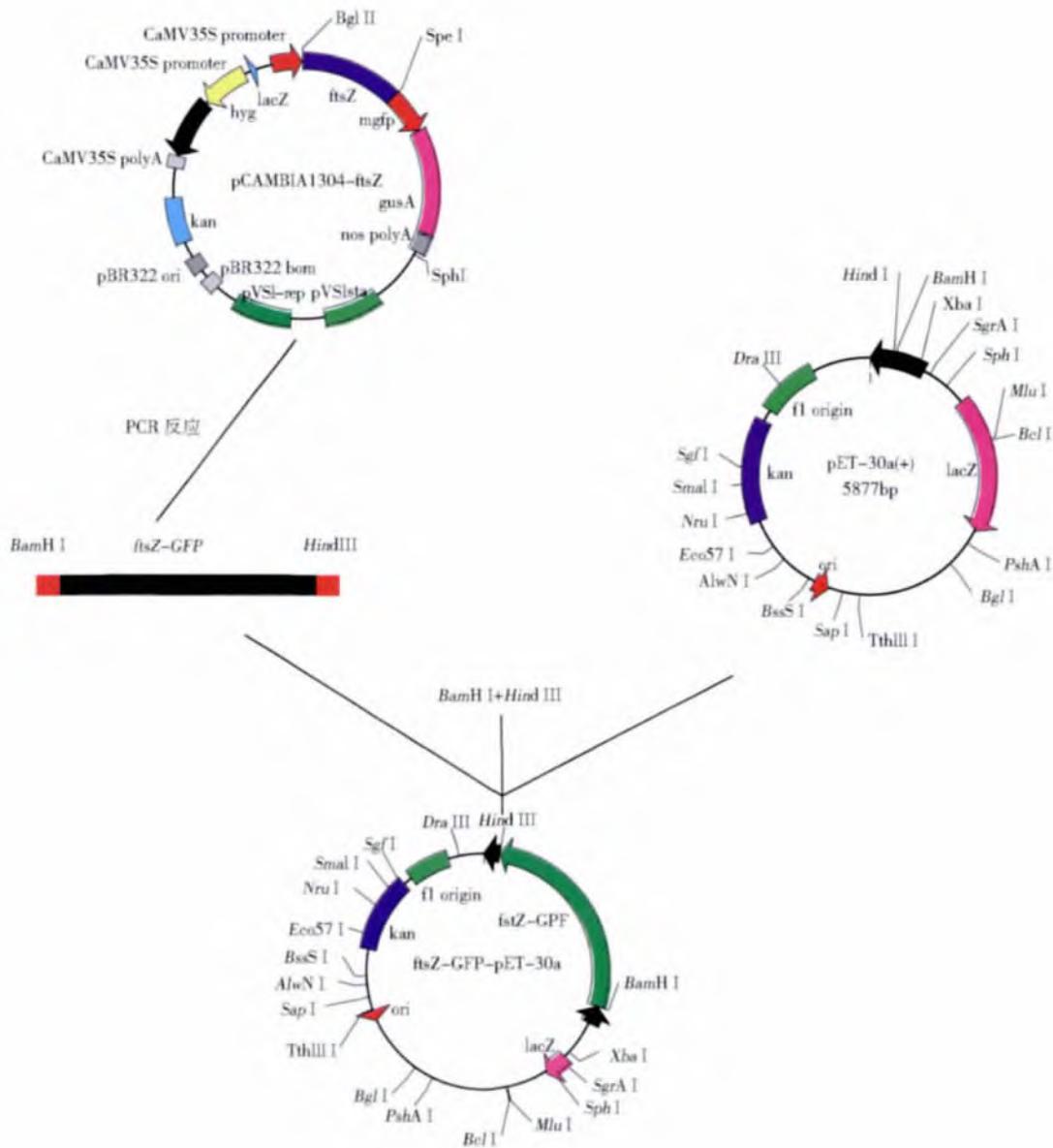


图2 原核表达载体的构建过程

Fig.2 Construction of the prokaryotic expression vectors

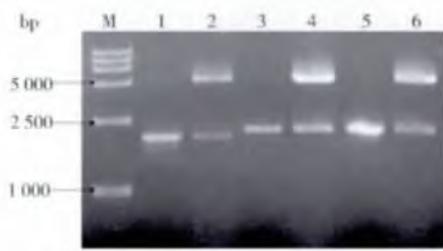


图3 *ftsZ1-GFP*、*ftsZ2-GFP*、*ftsZ3-GFP* PCR及重组质粒酶切结果

Fig.3 The results of *ftsZ1-GFP*, *ftsZ2-GFP*, *ftsZ3-GFP* PCR and enzymic digestion

M: DNA marker; 1, 3, 5 are the PCR results of *ftsZ1-GFP*, *ftsZ2-GFP*, *ftsZ3-GFP* respectively; 2, 4, 6 are the digestions of *ftsZ1-GFP*, *ftsZ2-GFP*, *ftsZ3-GFP*

### 2.3 *ftsZ1-GFP*、*ftsZ2-GFP*、*ftsZ3-GFP* 重组蛋白的 SDS-PAGE 检测

*ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* 蛋白的分子量约为 43.3 kDa、51.3 kDa、51.2 kDa, GFP 蛋白的分子量约为 27.3 kDa, 因此 *ftsZ1-GFP*、*ftsZ2-GFP*、*ftsZ3-GFP* 重组蛋白的分子量应分别为 70.6 kDa、78.6 kDa、78.5 kDa。pET-30(a)-*ftsZ1-GFP*/BL21(DE3)、pET-30(a)-*ftsZ2-GFP*/BL21(DE3) 和 pET-30(a)-*ftsZ3-GFP*/BL21(DE3) 经 IPTG 诱导表达的重组蛋白与预期大小相符合(图4)。

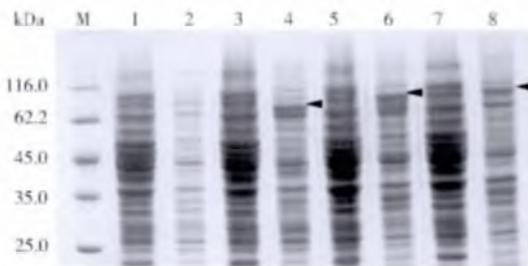


图4 *ftsZ1-GFP*、*ftsZ2-GFP*、*ftsZ3-GFP* 重组蛋白的 SDS-PAGE 检测结果

Fig.4 SDS-PAGE result of recombinant proteins *ftsZ1-GFP*, *ftsZ2-GFP*, and *ftsZ3-GFP*

M: Marker; 1: Control, cells with pET-30(a) vector after IPTG induction; 2: Control, cells with pET-30(a) vector without IPTG induction; 4, 6, 8: Cells with *ftsZ1-GFP*, *ftsZ2-GFP*, *ftsZ3-GFP* genes after IPTG induction; 3, 5, 7: Cells with *ftsZ1-GFP*, *ftsZ2-GFP*, *ftsZ3-GFP* genes without IPTG induction; The triangle symbol is labeled recombinant protein

### 2.4 菌体观察结果

正常的大肠杆菌菌长为 2~6  $\mu\text{m}$ , pET-30(a) 空载

体质转化的大肠杆菌 BL21(DE3) 在经过 IPTG 诱导前后菌体并没有发生明显的变化, 细胞的长度仍然保持在 2~6  $\mu\text{m}$  之间; 而以 pET-*ftsZ1-GFP*、pET-*ftsZ2-GFP*、pET-*ftsZ3-GFP* 融合重组表达质粒转化的大肠杆菌 BL21(DE3) 在加入 IPTG 前后菌体的形态变化很明显。加入 IPTG 后, *LacZ* 启动了 *ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* 基因的表达, 细菌菌体比对照菌长, 甚至有分枝状的菌体出现; 而未经 IPTG 诱导的转化菌体大小与对照菌大小形态相似(图5)。这些表型与大肠杆菌 *ftsZ* 突变体所表现出来的性状类似, 这样的结果说明了 *ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* 基因的表达, 对大肠杆菌的正常分裂有明显的影响。

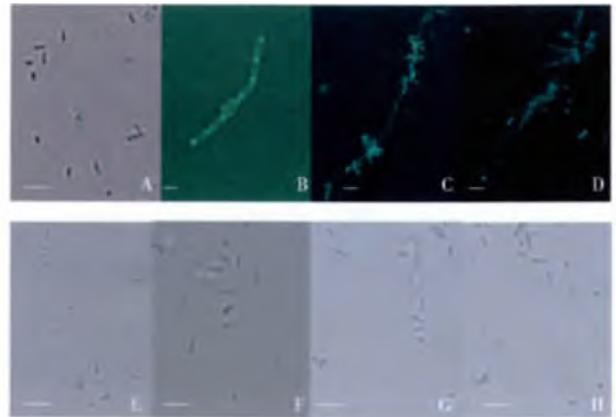


图5 *ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* 基因在大肠杆菌中的表达对宿主细胞形态的影响

Fig.5 Expressions of *ftsZ1*, *ftsZ2*, *ftsZ3* genes in *E. coli* on the effects of morphology in host cells

A: Control, cells with pET-30(a) vector after IPTG induction; E: Control, cells with pET-30(a) vector without IPTG induction; B, C, D: Cells with *ftsZ1-GFP*, *ftsZ2-GFP*, *ftsZ3-GFP* genes after IPTG induction; F, G, H: Cells with *ftsZ1-GFP*, *ftsZ2-GFP*, *ftsZ3-GFP* genes without IPTG induction. The bars are 10  $\mu\text{m}$

### 2.5 *ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* 基因在大肠杆菌中的表达对宿主细胞生长数量的影响

利用平板菌落计数法, 定量分析 *ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* 基因对大肠杆菌分裂的影响。 *ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* 基因的表达均能干扰大肠杆菌的分裂, 降低其数量(表1)。 *ftsZ1*、*ftsZ3* 基因的表达使细菌数目降低 3 个数量级, *ftsZ2* 基因的表达甚至使细菌数目降低至 5 个数量级。转入空载体的菌株, 添加或未加 IPTG 诱导, 细菌数目无明显变化。

表 1 *ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* 基因在大肠杆菌中的表达对宿主细胞生长数量的影响  
Table 1 Expression of *ftsZ1*, *ftsZ2*, *ftsZ3* gene in *E. coli* effects on host cells growth

处理	pET- <i>ftsZ1</i> -GFP 菌落数( cfu/ml)	pET- <i>ftsZ2</i> -GFP 菌落数( cfu/ml)	pET- <i>ftsZ3</i> -GFP 菌落数( cfu/ml)	pET-30( a) 菌落数( cfu/ml)
未加 IPTG 诱导	$2.52 \times 10^{12}$	$1.52 \times 10^{12}$	$2.32 \times 10^{12}$	$3.14 \times 10^{12}$
添加 IPTG 诱导	$1.79 \times 10^9$	$5.23 \times 10^7$	$1.92 \times 10^9$	$2.17 \times 10^{12}$

### 3 讨论

迄今为止,人们已经在绝大多数原核生物中发现了 *ftsZ* 基因的存在,并且不同物种中的 *ftsZ* 基因在序列和结构上呈现高度的保守性<sup>[5]</sup>。真核生物 FtsZ 蛋白是第一个鉴定出的叶绿体分裂相关的基本蛋白<sup>[11-12]</sup>。由于细菌与叶绿体相似的分裂方式,因而在分裂过程中 FtsZ 蛋白可能行使相似的功能。近年来的研究表明,真核生物质体分裂也有可能遵循着类似于原核生物分裂的机制<sup>[5, 21-22]</sup>。但与细菌所不同的是,真核生物中的 *ftsZ* 基因并不是以单拷贝方式存在而是分为两个不同的家族<sup>[8, 14]</sup>。目前研究较多的真核类生物有烟草的两个 *ftsZ* 家族,研究者认为不同基因家族之间以及同一家族内的 *ftsZ* 基因可能以更加复杂的作用模式在植物质体分裂中起着重要作用<sup>[23]</sup>。

为了研究木薯中 FtsZ 蛋白的作用机制,验证其功能,了解木薯中与 *ftsZ* 基因相关的质体分裂机制,我们将分离得到的 *ftsZ* 家族的 3 个基因构建了与 GFP 融合的原核表达载体,转化进大肠杆菌中进行表达与分析。结果通过对转化菌体形态的显微观察, *ftsZ1*、*ftsZ2*、*ftsZ3* 3 个基因的表达都对大肠杆菌的分裂有严重的干扰作用。图 5 中的每个荧光亮点我们认为是宿主菌中潜在的分裂位点,说明木薯中 *ftsZ* 家族的 3 个基因都分别能正确识别并定位在宿主菌体内的分裂位点上,从而在分裂部位聚集形成很明显的荧光点,同时干扰菌体的正常分裂活动,导致菌体成细丝状或出现丝状分枝。Ward 等<sup>[24]</sup> 研究表明,过量表达大肠杆菌的 *ftsZ* 基因,可以抑制大肠杆菌的分裂,我们在大肠杆菌中过量表达木薯 *ftsZ* 基因,同样抑制了大肠杆菌的分裂(表 1)。以上试验结果揭示了来自于木薯不同家族的 *ftsZ* 基因在维持正常的细胞分裂过程中与大肠杆菌的 *ftsZ* 基因可能担负着的相似的功能。尽管木薯与大肠杆菌的亲缘关系较远,但仍然对大肠杆菌的分裂有影响,说明 *ftsZ* 基因在物种之间的功能有相当高的保守性。植物中 *ftsZ* 基因数目的增加和分化使植物的质体分裂机

制比原核细胞的分裂机制要复杂得多,同时它们之间的相互作用还有待于更加深入的探索研究。

### 参考文献

- [1] Hirota Y. Thermo sensitive mutants of *E. coli* affected in the process of DNA synthesis and cell division. Cold Spring Harbor Symp, Quant Biol, 1968, 33: 677.
- [2] Lutkenhaus J, Wolf-Watz H, Donachie W D. Organization of genes in the *ftsA-envA* region of the *E. coli* genetic map and identification of a new *fts* locus (*ftsZ*). J Bacteriol, 1980, 142 (2): 615-620.
- [3] Bi E, Lutkenhaus J. FtsZ ring structure associated with division in *E. coli*. Nature, 1991, 354(6349): 161-164.
- [4] Addinall S G, Bi E, Lutkenhaus J. FtsZ ring formation in *fts* mutants. J Bacteriol, 1996, 178(13): 3877-3884.
- [5] 胡勇,孔冬冬. 衣藻叶绿体分裂相关基因 CrFtsZ3 的克隆及其原核表达. 生物化学与生物物理学报, 2003, 35(11): 998-1004.  
Hu Y, Kong D D. Cloning and expression of *Chlamydomonas reinhardtii* chloroplast division gene CrFtsZ3. Acta Biochimica et Biophysica Sinica, 2003, 35(11): 998-1004.
- [6] Erickson H P. FtsZ, a tubulin homologue in prokaryote cell division. Trends Cell Biol, 1997, 7: 362-367.
- [7] Lutkenhaus J, Addinall S G. Bacterial cell division and the Z ring. Ann Rev Biochem, 1997, 66: 93-116.
- [8] Erin D G, Natalie A D. Imaging-based identification of a critical regulator of FtsZ protofilament curvature in *Caulobacter*. Molecular Cell, 2010, 39: 975-987.
- [9] Reski R. Rings and networks: the amazing complexity of FtsZ in chloroplasts. Trends Plant Sci, 2002, 7(3): 103-105.
- [10] Osteryoung K W, Stoles K D, Rutherford S M, et al. Chloroplast division in higher plants requires members of two functionally divergent gene families with homology to bacterial *ftsZ*. Plant Cell, 1998, 10: 1991-2004.
- [11] Wang D, Kong D D, Hu Y, et al. Effects of tobacco plastid division genes NtFtsZ1-1 and NtFtsZ1-2 on the division and morphology of chloroplasts. Acta Botan Sin, 2002, 44(7): 838-844.
- [12] He Y K, Zhu C F, Wang D, et al. Cloning of plastid division

- gene GfFtsZ from *Gentiana lutea* and its expression during petal development. *Prog Nat Sci*, 2002, 12(8): 592-597.
- [13] Strepp R, Scholz S, Kruse S, et al. Plant nuclear gene knockout reveals a role in plastid division for the homolog of the bacterial cell division protein FtsZ, an ancestral tubulin. *Proc Natl Acad Sci*, 1998, 95: 4368-4373.
- [14] 王彩华, 雷启义, 胡勇. 衣藻叶绿体分裂基因 CrFtsZ1 在 *E. coli* 中的表达. *西北植物学报*, 2004, 24(5): 803-807.
- Wang C H, Lei Q Y, Hu Y. Expression of *Chlamydomonas reinhardtii* chloroplast division gene CrFtsZ1 in *E. coli*. *Acta Botan Sin*, 2004, 24(5): 803-807.
- [15] Louis G, Justine K, Bettina H, et al. Filamentous temperature-sensitive Z (FtsZ) isoforms specifically interact in the chloroplasts and in the cytosol of *Physcomitrella patens*. *New Phytolog*, 2007, 176: 299-310.
- [16] 胡勇, 雷启义, 孔冬冬等. 衣藻 CrFtsZ2-GFP 融合蛋白在 *E. coli* 中的表达及其定位. *水生生物学报*, 2004, 28(5): 484-489.
- Hu Y, Lei Q Y, Kong D D, et al. Expression and location of CrFtsZ2 gene from *chlamydomonas reinhardtii* in *E. coli*. *Acta Hydriobio Sin*, 2004, 28(5): 484-489.
- [17] Stanislav V, Aaron G S, Carol B J, et al. Oligomerization of plant FtsZ1 and FtsZ2 plastid division proteins. *Archi Biochem and Biophy*, 2011, 513: 94-101.
- [18] Ekkehard N, Richard W. Solute pores, ion channels, and metabolite transporters in the outer and inner envelope membranes of higher plant plastids. *Biochim Biophy Acta (BBA) - Biomembranes*, 2000, 1465: 307-323.
- [19] Stokes K D, McAndrew R S, Vitha S, et al. Chloroplast division and morphology are differentially by overexpression of FtsZ1 and FtsZ2 genes in Arabidopsis. *Plant Physiol*, 2000, 124: 1668-1677.
- [20] Ma X, Ehrhardt D W, Margolin W. Colocalization of cell division proteins FtsZ and FtsA to cytoskeletal structures in living *Escherichia coli* cells by using green fluorescent protein. *Proc Natl Acad Sci*, 1996, 93: 12998-13003.
- [21] Kuroiwa T, Kuroiwa H, Sakai A, et al. The division apparatus of plastids and mitochondria. *Int Rev Cytol*, 1998, 181: 1-41.
- [22] Kuroiwa T. The discovery of the division apparatus of plastids and mitochondria. *J Electron Microscop*, 2000, 49(1): 123-128.
- [23] 王东, 孔冬冬, 胡勇, 等. 烟草质体分裂相关基因 NtFtsZ 的克隆及功能分析, *自然科学进展*, 2002, 12(10): 1042-1047.
- Wang D, Kong D D, Hu Y, et al. Cloning and function analysis of tobacco plastid division gene NtFtsZ. *Prog Natl Sci*, 2002, 12(10): 1042-1047.
- [24] Ward Jr J E, Lutkenhaus J. Overproduction of FtsZ induces minicell formation in *E. coli*. *Cell*, 1985, 42(3): 941-949.

## Isolation of Cassava *ftsZ* Plastid Division Family Genes and Preliminary Identification Their Functions in *E. coli*

GENG Men-tin<sup>1,2</sup> YAO Yuan<sup>1,2</sup> HU Xin-wen<sup>1</sup> GUO Jian-chun<sup>2</sup> MIN Yi<sup>1,2</sup>

(1 College of Agriculture, Hainan University, Haikou 570228, China)

(2 Institute of Biotechnology and Bioscience, CATAS, Haikou 571101, China)

**Abstract** The *ftsZ* genes are a set of key genes in cell division regulation, and their proteins form a ring structure at the division site to control the process of cell division. In order to study the relationship between cassava starch formation and amyloplast division, three cassava *ftsZ* family genes were isolated and named as *ftsZ1-3*. To identify their functions, the *ftsZ1-3* genes respectively fused with *GFP* were expressed in *E. coli* BL21(DE3). The result showed that the expression of cassava *ftsZ* genes actively affect the *E. coli* division although the genetic relationship between cassava and *E. coli* is far, and the homology of their *ftsZ* genes is low. This result will be a foundation for further study the function of cassava *ftsZ* family genes.

**Key words** Cassava *ftsZ* gene family The expression of *E. coli* Cell division