1988, (62): 181 ~ 185

11 Chu C C, Hill R D. An improved anther culture method for obtaining higher frequency of embryoids in *Triticum aestivum* L. Plant, 1988, 58: 239 ~ 244

12 Finnie S J, Powell W, Dyer A F. The effect of Carbohydrate composition and concentration on anther culture response in barley (*Hordeum vulgare* L.). Plant Breeding, 1989, 103: 110 ~ 118

13 Karsai I, Bedo I, Hayes P M. Effect of induction medium pH and maltose concentration on in vitro audrogenesis of hexaploid winter triticale and wheet. Plant Cell. Tissue and Org. Cult., 1994, 39: 49 ~ 53

14 孙宗修, 斯华敏, 程式华, 等. 麦芽糖提高水稻花药培养效率的研究. 中国水稻科学, 1993, 7 (4): 227 ~ 231

15 王式安. 数理统计方法及应用模型. 北京: 北京科学技术出版社, 1992. 475

16 Novàk F J. Induction of a haploid callus in anther cultures of *Capscicum* sp. Z. Pflanzenüchtg, 1974, 72: 46 ~ 54

17 Ramon D S, Elisabet C, Agustin H. Androgenesis in *Capsicum annuum* L. Effects of carbohydrate and carbon dioxide enrichment. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 1997, 122 (4): 468 ~ 475

18 朱至清, 孙敬三, 王敬驹. 小麦 (*Triticum aestivum*) 雄核发育的细胞学研究. 植物学报, 1978, 20: 6 ~ 12

番茄 *E*8 启动子乙烯应答元件克隆及 DNA 序列分析

赵凌侠[1,2]　金丽鑫[2]　李柱刚[1]　曹又方[1]　邱承祥[1]　唐东芹[1,2]　钱虹妹[1]　唐克轩[1,2]

([1] 上海交通大学复旦－交大－诺丁汉植物生物技术研发中心, 上海 200030; [2] 上海交通大学农业与生物学院植物生物技术研究中心, 上海 200030)

Cloning and DNA Sequence Analysis of Element Responsive to Ethylene in *E*8 Promoter of the Tomato

Zhao Lingxia[1,2], Jin Lixin[2], Li Zhugang[1], Cao Youfang[1], Qiu Chengxiang[1], Tang Dongqin[1,2], Qian Hongmei[1], and Tang Kexuan[1,2] ([1] *Fudan-SJTU-Nottingham Plant Biotechnology R&D Center, Shanghai Jiaotong University, Shanghai* 200030, *China*; [2] *Plant Biotechnology Research Center, School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai* 200030, *China*)

关键词: 番茄; *E*8 启动子; DNA 序列

中图分类号: S 641　**文献标识码**: A　**文章编号**: 0513-353X (2004) 02-0204-01

*E*8 启动子是常用的番茄果实特异表达启动子之一，是指番茄 *E*8 基因 5' 侧翼近 2.2 kb 的 DNA 序列。前人的研究表明，*E*8 基因 5' 侧翼 －2181 ～ －1088 区段的删除使 *E*8 基因表达量大幅度下降（仅为完整 *E*8 启动子的 1/10），同时该区段还是 *E*8 基因对乙烯应答的充分必要区域；这说明了该区段是 *E*8 基因表达调控的重要元件。

为了探究不同遗传型栽培番茄（*Lycopersicon esculentum*）*E*8 基因的 5' 侧翼 －2181 ～ －1088 区段 DNA 序列是否存在差异，作者以 F1：5'-cca agc ttg aat tca ttt ttg aca tc-3' 和 R1：5'-cgc gga tcc cta gat atg ggt ctt tct ag-3' 为引物，在 *pfu* DNA 聚合酶催化下以 3 份番茄 V06A0751、V06A1519（由中国农科院蔬菜花卉所国家蔬菜种质资源中期库提供）和'澳洲明珠'（系本实验室保存）的基因组 DNA 作模板进行了 PCR 扩增，反应体系为 25 μL：其中 F1 和 R1 各 1 μL（10 μmol/L），dNTPs 2 μL（每种 5 mmol/L），10 × PCR buffer 2.5 μL，25 mmol/L $MgCl_2$ 1.5 μL，模板 DNA 4 μL（10 ng/μL），*pfu* DNA 聚合酶 0.5 μL（5U/μL），ddH_2O 12.5 μL，混匀后上覆 25 μL 矿物油；在 Hybaid PCR 仪上扩增，反应条件为：95℃ 3 min，1 个循环；94℃ 1 min、56℃ 1 min 、72℃ 1 min 30 s，35 个循环；72℃ 8 min，1 个循环。回收 1.1 kb 目的片段并连入 T-easy vector（购自 Promega 公司），测序结果依次命名为 p*E*8-4、p*E*8-7 和 p*E*8-10。利用软件 ClustalX 1.81 和 Ni and Li 的方法分别将测序结果与 p*E*8（*E*8 基因 5' 侧翼序列 －2181 ～ －1088 和 Zhou 等在 GeneBank 登录的 AF515784 进行多序列比较和计算序列间相似系数。

研究结果表明，5 个不同遗传型栽培番茄 *E*8 启动子乙烯应答区域（－2181 ～ －1088）间的核苷酸虽然存在一定差异（4 ~ 27 bp），但相似系数均在 98% 以上，说明栽培番茄 *E*8 启动子乙烯应答元件区域具有较高的保守性。现仅对 *E*8 启动子乙烯应答元件进行了初步的研究，而 2.2 kb 的番茄 *E*8 启动子其他功能元件、番茄属种间（如野生种）*E*8 启动子、番茄不同类型的果实特异表达启动子〔如 *E*8、PG（polygalacturonase）、2A11〕以及与番茄属亲缘关系更远的如苹果、香蕉、鳄梨果实特异表达启动子间的差异和功能的研究还有待进一步展开，随着研究的不断深入，有望获得功能更强的适于番茄果实特异表达的启动子。

收稿日期: 2003 - 09 - 10; **修回日期**: 2004 - 02 - 12

基金项目: 国家"十五"计划项目(2002AA206511); 上海科技攻关重大项目(03DZ19310); 上海交通大学农科项目