

# 甜椒甘油 - 3 - 磷酸酰基转移酶基因的克隆与表达分析

陈 娜 郭尚敬 颜 坤 董新纯 孟庆伟 \*

(山东农业大学生命科学学院, 泰安 271018)

**摘 要:** 用 RT-PCR 技术从甜椒 (*Capsicum annuum*) 中克隆了甘油 - 3 - 磷酸酰基转移酶基因的 cDNA 序列, 其全长为 1 791 bp, 开放阅读框架为 1 392 bp, 编码 463 个氨基酸, 命名为 *CaGPAT*。序列分析表明该基因与番茄中的甘油 - 3 - 磷酸酰基转移酶基因同源性最高; 在进化上与番茄最先聚类, 其次是菠菜。Northern 杂交结果显示, *CaGPAT* 在甜椒各器官中表达量差异较大, 叶片中的表达量明显高于根、茎、花及果实。低温诱导该基因快速表达, 8 ℃ 下处理 3 h 该基因表达量最高, 12 h 以后基因表达量下降; 而高温对基因表达没有明显影响。当温度低于 15 ℃ 时基因表达被诱导。结果表明甜椒叶绿体 *CaGPAT* 的表达量与低温关系密切。

**关键词:** 甜椒; 基因克隆; 基因表达; 低温

中图分类号: S 641.3 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2005) 05-0823-05

## Cloning and Expression Analysis of Glycerol-3-phosphate Acyltransferase Gene from Sweet Pepper

Chen Na, Guo Shangjing, Yan Kun, Dong Xinchun, and Meng Qingwei \*

(College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

**Abstract:** A full length cDNA of glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT) gene was cloned from sweet pepper by using RT-PCR approach with degenerate primers based on the conserved motifs found in a number of plant GPAT genes. The *CaGPAT* is 1 791 bp encoding 463 amino acids, with high homology to tomato GPAT gene. Phylogenetic tree analysis showed that the amino acid sequence of GPAT in sweet pepper first gathered with that in tomato, then with that in spinach. Northern blot showed that the expression of *CaGPAT* in leaves was higher than that in other organs such as roots, stems, petals and fruits. *CaGPAT* expression could be significantly induced by low temperature (8 ℃) for 3 h. But it could not be obviously induced by high temperature (35 ℃). The gene expression level had no obvious difference at 5 ℃, 10 ℃ and 15 ℃. These results demonstrate that *CaGPAT* expression is closely correlated with plant responding to low temperature.

**Key words:** Sweet pepper; Gene clone; Gene expression; Low temperature

植物的抗冷能力与叶绿体膜脂中磷脂酰甘油 (PG) 的顺式不饱和脂肪酸水平密切相关<sup>[1]</sup>, 抗冷植物中 PG 的 *sn*-1 位具有较高比例的顺式不饱和脂肪酸, 而冷敏感植物中顺式不饱和脂肪酸比例则较低<sup>[2,3]</sup>。由于叶绿体中 PG 的 *sn*-2 位主要被饱和脂肪酸和反式不饱和脂肪酸所占据<sup>[4]</sup>, 人们推测 *sn*-1 位的顺式不饱和脂肪酸含量决定了不同植物的冷敏感性<sup>[3]</sup>。人们通过基因工程的手段调控 PG 中顺式不饱和脂肪酸的含量, 从而改变了烟草<sup>[5]</sup>、拟南芥<sup>[6]</sup>和水稻<sup>[7,8]</sup>的冷敏感性。

甘油 - 3 - 磷酸酰基转移酶 (GPAT) 是叶绿体 PG 生物合成过程中的第一个酰基酯化酶, 它将脂肪酰基转移到 3 - 磷酸甘油的 C-1 位上合成 1 - 酰基 - *Sn* - 甘油 - 3 - 磷酸 (溶血磷脂酸)。一般来说,

收稿日期: 2005 - 01 - 05; 修回日期: 2005 - 03 - 01

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30471053)

\*通讯作者 Author for correspondence

抗冷植物 GPAT 优先选择 C18 1-ACP 作为底物, 因此叶绿体中 PG 的 *sn*-1 位置上含有较高比例的 18 1 脂肪酸, 这些脂肪酸可以在酰基脂肪酸去饱和酶的作用下进一步去饱和和化成为顺式多聚不饱和脂肪酸; 然而, 冷敏感植物 GPAT 很难区分 C18 1-ACP 和 C16 0-ACP, 由于 16 0 脂肪酸不能被进一步去饱和形成顺式不饱和脂肪酸, 导致冷敏感植物 PG 的 *sn*-1 位顺式不饱和脂肪酸含量较低, 从而对低温较敏感<sup>[4,9~11]</sup>。然而, 2000 年 Nishida 等<sup>[12]</sup>从冷敏感植物南瓜中分离得到了 GPAT 的一个同工酶以 C18 1-ACP 为底物。因此, GPAT 基因在植物抗冷性中的作用引起了人们广泛的关注。

目前已从许多植物中克隆了 GPAT 基因, 并研究了其部分功能, 但在茄科植物中未见该基因克隆和功能分析的报道。在我国北方保护地栽培和冬春育苗中, 茄科植物甜椒易受到低温危害。本研究试图克隆甜椒 GPAT 基因, 并分析它在不同器官及不同温度下的表达特征, 从而为研究甜椒抗冷的分子机制奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料及总 RNA 的提取和 cDNA 的克隆

试验材料为‘茄门’甜椒。种子在 25℃ 下避光萌发, 发芽后移入土中培养约 30 d, 植株长出 8 片真叶时取其叶片提取 RNA。采集植物材料, 用液氮速冻, -80℃ 保存。

取 0.1 g 植物材料于液氮中研磨成粉末状, 采用 Trizol 试剂提取总 RNA (方法参考上海生工 Trizol 试剂盒说明), -80℃ 保存。

以总 RNA 为模板, Oligo (dT) 为引物, 在逆转录酶的作用下合成 cDNA 第 1 链, 于 -80℃ 保存。根据与甜椒种属较近的几种植物的 GPAT 基因保守序列设计引物 GP (5'CA YCARASTgAAgCWg ATCC 3') 和 GP (5'ggA ggV ggCA TDA TgTCA TR 3')。以反转录得到的 cDNA 为模板, PCR 扩增得到中间片段, 反应体系为 25 μL, 内含 1.5 倍反应缓冲液, 反应条件为 94℃ 预变性 4 min, 94℃ 变性 50 s, 50℃ 复性 50 s, 72℃ 延伸 60 s, 35 个循环, 然后 72℃ 延伸 10 min。根据中间片段设计引物 GP (5'gCA TATgAA TgTgACCCCGAACTTg 3') 和 GP (5'gCCTCCTCA TgTTgTCTgTCg CagA 3'), 分别与 B26 和 UAP、AAP 扩增基因的 3'端和 5'端拼接得到基因全长, 根据全长设计引物 GP (5'CTCTA AAACCGTCTgCTCCTCTg 3') 和 GP (5'ATAACTgCCAAACAAACATCTgC 3') 克隆得到基因全长。将 PCR 产物纯化, 连接到克隆载体 pMD18-T 系统的多克隆位点上, 转化大肠杆菌 DH5, 利用 IPTG 和 X-gal 在含氨苄青霉素的平板上筛选白色菌落, 通过菌落 PCR, 菌液 PCR 及用 SalI 和 XbaI 双酶切鉴定重组子, 将鉴定出的菌液用于测序。利用 DNAMAN、DNAclub 软件及 NCBI 网站进行序列分析。

### 1.2 不同器官 GPAT 基因的表达

分别提取植株的根、茎、叶片、花瓣及果实中的总 RNA, 然后以 5'端约 700 bp 片段为探针进行 Northern 杂交检测。在 8℃ 和 35℃ 下处理已长出 8 片真叶的甜椒幼苗, 分别于处理 1、3、7、12 h 和 1、2 及 3 d 后取材, 采用 Trizol 法提取叶片中的总 RNA, 以 25℃ 下生长的甜椒为对照, 以基因 5'端的 700 bp 片段为探针进行 Northern 杂交并通过放射自显影获得杂交结果。根据上述结果采用不同温度 (5、10、15 和 20℃) 处理甜椒幼苗, 处理时间为 3 h, Northern 杂交检测基因表达情况。

## 2 结果与分析

### 2.1 甜椒甘油 - 3 - 磷酸酰基转移酶基因的克隆及序列分析

利用 RT-PCR 方法, 首次从甜椒叶片中克隆了甘油 - 3 - 磷酸酰基转移酶基因的 cDNA 全序列。中间片段、3'端 cDNA 片段、5'端 cDNA 片段以及全长 cDNA 大小与预期一致。测序结果显示, 甜椒 GPAT 的 cDNA 全长 1 791 bp, 在 5'端有一段 51 bp 的非编码区, 第 1 441 ~ 1 443 个碱基处为该基因的终止密码子 TAG, 其后有一段 348 个碱基的非编码区; 该基因的编码区共为 1 392 bp, 推测其编码 463 个氨基酸。该基因被命名为 *CaGPAT*, 并在 GenBank 注册 (AY318749)。

经 DNAMAN 分析, 甜椒 GPAT 基因 DNA 序列与其它植物 GPAT 基因 DNA 序列同源性较高, 与番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 的 GPAT 基因的同源性高达 87.3%, 与黄瓜 (*Cucumis sativus*)、红花 (*Carthamus tinctorius*)、菜豆 (*Phaseolus vulgaris*)、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、菠菜 (*Spinacia oleracea*) 及柑橘 (*Citrus unshiu*) 等 GPAT 基因的同源性均在 60% 以上, 与南瓜 (*Cucurbita moschata*) 和水稻 (*Oryza sativa*) 的同源性稍低, 分别为 59.2% 和 56%。

## 2.2 CaGPAT 氨基酸序列分析

由甜椒甘油 - 3 - 磷酸酰基转移酶基因的 cDNA 序列推断该基因编码 463 个氨基酸, 与其它植物 GPAT 基因的氨基酸序列进行同源性比较 (图 1), 甜椒 GPAT 的氨基酸序列与番茄同源性最高, 达到 85.5%, 其次与柑橘的同源性为 60.7%, 与黄瓜、红花、菠菜、水稻和油棕榈 (*Elaeis guineensis*) 的同源性分别为 58.3%、58.1%、57.2%、51.7% 和 52.2%。甜椒和番茄同属于茄科, 为冷敏感植物, 因而两种植物的 GPAT 的氨基酸序列同源性较高。而柑橘与甜椒虽然不属于同一科, 但都为冷敏感植

I	.....MLLSAASSSARISRPPLSSSFSTFAA.....SAAT..TSRL.....FPISCFGVKSTVGNRKLQCAVFCASLKVGRMAEMI	70
II	.....MLSSALSASSARIPRP.LSSSFSTCVVVVTVSSAA.....TSTL.....FPISCFGVKSTVGNRKLQCAVFCAS.LKVGRMAEMI	73
III	.....MFLSAVSSSSSSSSVPSLPPFLSPSSISLSFSRVSLLPSSSSSSSS.....SLKFLPLSLHFTPKLSSPHSFLRFSASRAMAELIQ.....	85
IV	.....MFLVSSSAPPVLEVCCKDRVSSSFSTSSSSSSSAFSAVFRRSFTTRNS.....SLICCCSKLKMADTALPSSSSSTSSASYSAAAKSVEENHEIPV	42
V	.....MSIIFSSPPTLFFSTTNANPRVSPSSSPSSSAFTPLSSSLRPI.....LRGF.....PCLAFSAPANAAGHT.....AETV	96
VI	.....MSSLSLITFFATTAPRVLPASSSNPKLSPSY.SFSAITARRHSTAVF..RSGARTSATPCASFSFNNRAMAKM/QDRSAVSS.....	68
VII	.....MDSFAHCASHINRHKMKIMFIFSTPOCSPSTAFFSPFRASNSKPLRSTLSRSSISSITSTSHCSLAFNIVKHKEKNVWSANMTSSVS.....	85
VIII	.....MDSFAHCASHINRHKMKIMFIFSTPOCSPSTAFFSPFRASNSKPLRSTLSRSSISSITSTSHCSLAFNIVKHKEKNVWSANMTSSVS.....	92
I	EDNKEINSS..TAAAAAIAVTAASENDELPHSRAFLDARTGEDLSAVRKAVEDEKLELNVAEGEELYNQYNAVLCSGVKPADEILLYNMALVL..DRV	167
II	EDAMTVS.....ASESHELPCSRDFLDARTGEDLSAVRKAVEDEKLELNVAEGEELYNQYNAVLCSGVKPADEILLYNMALVF..DRV	157
III	.....DKESAHTPSTTDVTRNDPP...HSRAELDLRSEEEELISCTRRTEAGKLESNVAGGEELYNQYNAVLCSGVKPADEILVLSNMTVAL..DRI	173
IV	.....AARGPRVPAKGAVALASEVV...GPSPLDARNEQELILHTRKEVEKGLBADVAANLEELYNQYNAVLCSGVKPADEILVLSNMTVAL..DRI	130
V	.....KEDDNQLL...RSRTYRNVSAEELISEIKRESEIGRIKSVAYAMELFFHYRNVAVLSSGI SHADEIVLSNMTVAL..DRI	174
VI	HGNKWPSPS...SSSSAATQPSAGSDHG...HSRTFIDARSEQDILLSCIGREVEAGRIEENLNGEELYNQYNAVLCSGVKPADEILVLSNMTVAL..DRI	162
VII	.....S..SASDEQNKMMLNIEVN...HSRTFIDARSEQDILLSCIGREVEAGRIEENLNGEELYNQYNAVLCSGVKPADEILVLSNMTVAL..DRI	171
VIII	.....SRTFLNAQNEQDVLSCIGKEVEAGTLEASIAAGGEELYNQYNAVLCSGVKPADEILVLSNMTVAL..DRI	161
I	FVVDKDPFESFYHKAIEFEEDYTFGQNYRRELVDERSVGVNLSVFEEMEEKKQCGNVLVLSNHQSEADEFATIALILBPKINPYIAENMTVAGGRVI	267
II	FVVDKDPFESFYHKAIEFEEDYTFGQNYRRELVDERSVGVNLSVFEEMEEKKQCGNVLVLSNHQSEADEFATIALILBPKINPYIAENMTVAGGRVI	257
III	LLVEDPPEFESFYHKAIEFEEDYTFGQNYRRELVDERSVGVNLSVFEEMEEKKQCGNVLVLSNHQSEADEFATIALILBPKINPYIAENMTVAGGRVI	273
IV	LLVEDPPEFESFYHKAIEFEEDYTFGQNYRRELVDERSVGVNLSVFEEMEEKKQCGNVLVLSNHQSEADEFATIALILBPKINPYIAENMTVAGGRVI	230
V	LLVEDPPEFESFYHKAIEFEEDYTFGQNYRRELVDERSVGVNLSVFEEMEEKKQCGNVLVLSNHQSEADEFATIALILBPKINPYIAENMTVAGGRVI	274
VI	LLVEDPPEFESFYHKAIEFEEDYTFGQNYRRELVDERSVGVNLSVFEEMEEKKQCGNVLVLSNHQSEADEFATIALILBPKINPYIAENMTVAGGRVI	262
VII	LLVEDPPEFESFYHKAIEFEEDYTFGQNYRRELVDERSVGVNLSVFEEMEEKKQCGNVLVLSNHQSEADEFATIALILBPKINPYIAENMTVAGGRVI	271
VIII	FLVVDKDPFESFYHKAIEFEEDYTFGQNYRRELVDERSVGVNLSVFEEMEEKKQCGNVLVLSNHQSEADEFATIALILBPKINPYIAENMTVAGGRVI	261
I	TDFLCREFSYGRNLCVYSKKHMDPEFADNKKRANTRSRKE.MALLLRGESQLIWIAPSGCRDRDFEPTKEWYPAFFDASATDNMRRIEVEHAGVFGHI	366
II	TDFLCREFSYGRNLCVYSKKHMDPEFADNKKRANTRSRKE.MALLLRGESQLIWIAPSGCRDRDFEPTKEWYPAFFDASATDNMRRIEVEHAGVFGHI	356
III	ADFLCREFSYGRNLCVYSKKHMDPEFADNKKRANTRSRKE.MALLLRGESQLIWIAPSGCRDRDFEPTKEWYPAFFDASATDNMRRIEVEHAGVFGHI	372
IV	TDFLCREFSYGRNLCVYSKKHMDPEFADNKKRANTRSRKE.MALLLRGESQLIWIAPSGCRDRDFEPTKEWYPAFFDASATDNMRRIEVEHAGVFGHI	329
V	TDFLCREFSYGRNLCVYSKKHMDPEFADNKKRANTRSRKE.MALLLRGESQLIWIAPSGCRDRDFEPTKEWYPAFFDASATDNMRRIEVEHAGVFGHI	374
VI	TDFLCREFSYGRNLCVYSKKHMDPEFADNKKRANTRSRKE.MALLLRGESQLIWIAPSGCRDRDFEPTKEWYPAFFDASATDNMRRIEVEHAGVFGHI	362
VII	TDFLCREFSYGRNLCVYSKKHMDPEFADNKKRANTRSRKE.MALLLRGESQLIWIAPSGCRDRDFEPTKEWYPAFFDASATDNMRRIEVEHAGVFGHI	370
VIII	TDFLCREFSYGRNLCVYSKKHMDPEFADNKKRANTRSRKE.MALLLRGESQLIWIAPSGCRDRDFEPTKEWYPAFFDASATDNMRRIEVEHAGVFGHI	361
I	YPIAILCYDIMPFAQVEKNIKEKRVSEHGAGVSVAPKIDFREVAGTLEDPE.AKMVYTKALVDSVSCYVNLNSAIHGKQGLEASIPSVLSLQFWQ	463
II	YPIAILCYDIMPFAQVEKNIKEKRVSEHGAGVSVAPKIDFREVAGTLEDPE.AKMVYTKALVDSVSCYVNLNSAIHGKQGLEASIPSVLSLQFWQ	453
III	YPIAILCYDIMPFAQVEKNIKEKRVSEHGAGVSVAPKIDFREVAGTLEDPE.AKMVYTKALVDSVSCYVNLNSAIHGKQGLEASIPSVLSLQFWQ	470
IV	YPIAILCYDIMPFAQVEKNIKEKRVSEHGAGVSVAPKIDFREVAGTLEDPE.AKMVYTKALVDSVSCYVNLNSAIHGKQGLEASIPSVLSLQFWQ	427
V	YPIAILCYDIMPFAQVEKNIKEKRVSEHGAGVSVAPKIDFREVAGTLEDPE.AKMVYTKALVDSVSCYVNLNSAIHGKQGLEASIPSVLSLQFWQ	472
VI	YPIAILCYDIMPFAQVEKNIKEKRVSEHGAGVSVAPKIDFREVAGTLEDPE.AKMVYTKALVDSVSCYVNLNSAIHGKQGLEASIPSVLSLQFWQ	462
VII	YPIAILCYDIMPFAQVEKNIKEKRVSEHGAGVSVAPKIDFREVAGTLEDPE.AKMVYTKALVDSVSCYVNLNSAIHGKQGLEASIPSVLSLQFWQ	469
VIII	YPIAILCYDIMPFAQVEKNIKEKRVSEHGAGVSVAPKIDFREVAGTLEDPE.AKMVYTKALVDSVSCYVNLNSAIHGKQGLEASIPSVLSLQFWQ	458

图 1 不同植物 GPAT 氨基酸序列同源性比较

: 甜椒 (AY318749); : 番茄 (AY360170); : 黄瓜 (M80571); : 水稻 (NM197897); : 菠菜 (X77370);  
: 红花 (Q42713); : 柑橘 (BAB79529); : 油棕榈 (AAF64066)。

Fig 1 Alignment of predicted amino acid sequences of GPAT genes from different plants

: *Capsicum annuum* (AY318749); : *Lycopersicon esculentum* (AY360170); : *Cucumis sativus* (M80571);  
: *Oryza sativa* (NM197897); : *Spinacia oleracea* (X77370); : *Carthamus tinctorius* (Q42713);  
: *Citrus unshiu* (BAB79529); : *Elaeis guineensis* (AAF64066)。

物,因此这两种植物的 GPAT 的氨基酸序列同源性也比较高。与黄瓜、红花和菠菜等因亲缘关系较远及抗冷性不同等原因,氨基酸序列同源性较低。这预示着 GPAT 具有种属特异性并且可能在植物抗冷性中具有重要作用。此外,从图 1 还可以看出,不同植物的 GPAT 的氨基酸序列差别主要是在 N 端约 100 个氨基酸,这些序列可能决定着不同植物 GPAT 的催化功能及对底物的选择性。

### 2.3 CaGPAT 氨基酸序列的系统树分析

应用 DNAMAN 软件将编码的氨基酸序列及从 GenBank 中获取的其他植物 GPAT 氨基酸序列进行系统树分析,发现甜椒 *CaGPAT* 与同一科的番茄最先聚类合并,在进化上靠得最近,接着与菠菜和豌豆聚合,然后与黄瓜和南瓜聚类,而与拟南芥及单子叶植物水稻在进化上的亲缘关系最远(图 2)。

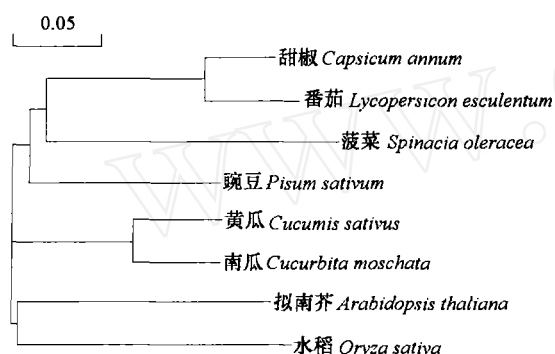


图 2 不同植物 GPAT 氨基酸序列的系统树分析

Fig. 2 Phylogenetic tree of the deduced amino acid sequence of GPAT in different plants

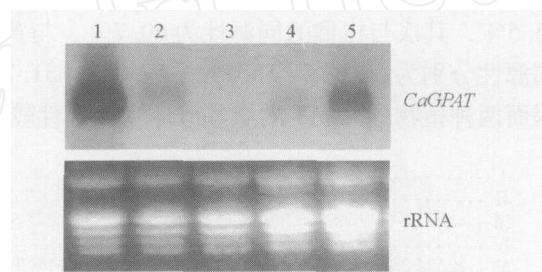


图 3 不同器官 CaGPAT 的表达

1: 叶片; 2: 茎; 3: 根; 4: 花瓣; 5: 果实。

Fig. 3 Expression of CaGPAT in different organs of sweet pepper

1: Leaves; 2: Stems; 3: Roots; 4: Petals; 5: Fruits

### 2.4 CaGPAT 的表达特性分析

以甜椒 *CaGPAT* 的 5' 端一段 cDNA 为探针进行了 Northern 杂交分析。结果表明, *CaGPAT* 在叶片中的表达量最高, 在果实和茎中稍有表达, 根和花瓣中几乎检测不到该基因的表达(图 3)。

以 25℃ 下生长的甜椒植株为对照, 将甜椒幼苗置于 8℃ 和 35℃ 的光照培养箱中进行处理。结果显示, 低温诱导叶片 GPAT 基因的表达, 以低温处理 3 h 的表达量最高(图 4, 左), 随低温处理时间的延长表达量下降。35℃ 高温对甜椒 GPAT 基因的诱导作用不明显(图 4, 右)。

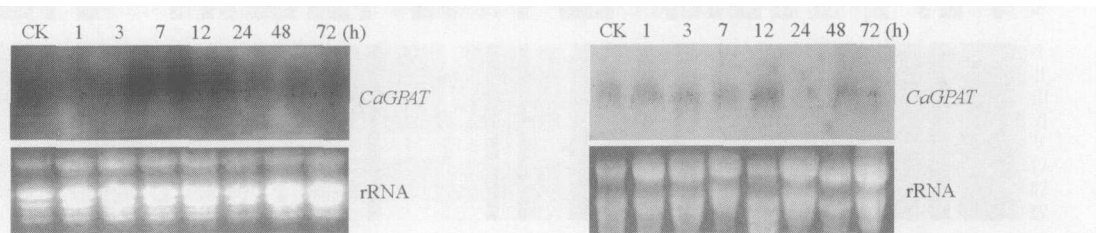


图 4 低温(左, 8℃)和高温(右, 35℃)处理下甜椒叶片 CaGPAT 随时间的表达

Fig. 4 Expression of CaGPAT in sweet pepper leaves at low and high temperatures for different time

CK: at 25℃; Left: treatment at 8℃; Right: treatment at 35℃

对甜椒幼苗进行不同的温度处理 3 h, 以 25℃ 为对照进行 Northern 杂交分析(图 5), 可以看出, 20℃ 和 25℃ 下 *CaGPAT* 表达量少, 低于 15℃ 时基因表达明显增强。

## 3 讨论

甘油-3-磷酸酰基转移酶为膜脂不饱和脂肪酸合成途径中的关键酶。本研究采用 RT-PCR 技

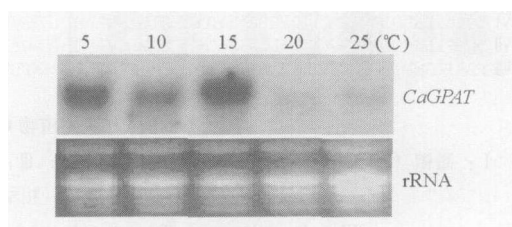


图 5 不同温度下甜椒叶片 CaGPAT 的表达

Fig. 5 Expression of CaGPAT in sweet pepper leaves treated at different temperatures for 3 h

术,首次从茄科植物甜椒叶片中克隆了 GPAT基因,通过与番茄、黄瓜、菜豆、拟南芥和菠菜等植物的 GPAT基因序列进行同源性比较,证实所克隆的基因为甜椒甘油 - 3 - 磷酸酰基转移酶的基因 (*CaGPAT*)。氨基酸序列同源性比较结果表明,亲缘关系较近的植物中 GPAT基因的氨基酸序列同源性较高,而且冷敏感性相近的植物的氨基酸序列同源性也较高,这预示 GPAT与植物抗冷性相关。

甜椒不同器官 *CaGPAT*表达的结果显示,在叶片中表达量最高,其次是在果实和茎中,而在根和花瓣中几乎不表达,其原因可能是由于该基因主要定位于叶绿体的类囊体膜中,因而叶绿体含量越高的器官基因表达量就越高。低温可以诱导 *CaGPAT*快速表达,3 h即达高峰,12 h后基因表达量下降,说明植物受到低温胁迫后能够快速启动 *CaGPAT*的表达。高温胁迫下该基因表达量没有明显变化,可见甘油 - 3 - 磷酸酰基转移酶与植物的耐低温能力密切相关,通过该基因的快速表达来抵抗低温是甜椒对低温胁迫的适应机制之一。我们已构建了 *CaGPAT*的正义和反义表达载体,并获得了转基因的烟草植株,以进一步研究该基因在提高植物抗冷性中的作用。

### 参考文献:

- 1 Nishida I, Murata N. Chilling sensitivity in plants and cyanobacteria: The crucial contribution of membrane lipids. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 1996, 47: 541 ~ 568
- 2 Murata N, Sato N, Takahashi N, Hamazaki Y. Composition and positional distributions of fatty acids in phospholipids from leaves of chilling-sensitive and chilling-resistant plants. *Plant Cell Physiol.*, 1986, 23: 1071 ~ 1079
- 3 Murata N. Molecular species composition of phosphatidyl-glycerols from chilling-sensitive and chilling-resistant plants. *Plant Cell Physiol.*, 1983, 24: 81 ~ 87
- 4 Bertrams M, Heinz E. Positional specificity and fatty acid selectivity of purified sn-glycerol 3-phosphate acyltransferase from chloroplasts. *Plant Physiol.*, 1981, 68: 653 ~ 657
- 5 Murata N, Isizaki-Nishizawa O, Higashi S, Hayashi H, Tasaka Y, Nishida I. Genetically engineered alteration in the chilling sensitivity of plants. *Nature*, 1992, 356: 710 ~ 713
- 6 Wolter F P, Schmidt R, Heinz E. Chilling sensitivity of *Arabidopsis thaliana* with genetically engineered membrane lipids. *EMBO J.*, 1992, 11: 4685 ~ 4692
- 7 Yokio S, Higashi S I, Kishitani S, Murata N, Toriyama K. Introduction of the cDNA for *Arabidopsis* glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT) confers unsaturation of fatty acids and chilling tolerance of photosynthesis on rice. *Molecular Breeding*, 1998, 4: 269 ~ 275
- 8 Ariizumi T, Kishitani S, Inatsugi R, Nishida I, Murata N, Toriyama K. An increase in unsaturation of fatty acids in phosphatidylglycerol from leaves improves the rates of photosynthesis and growth at low temperatures in transgenic rice seedlings. *Plant Cell Physiol.*, 2002, 43 (7): 751 ~ 758
- 9 Frentzen M, Heinz E, Mckee T A, Stumpf P K. Specificities and selectivities of glycerol-3-phosphate acyltransferase and monoacylglycerol-3-phosphate acyltransferase from pea and spinach chloroplasts. *Eur. J. Biochem.*, 1983, 129: 629 ~ 636
- 10 Frentzen M, Nishida I, Murata N. Properties of the plastidial acyl- (acyl-carrier-protein): glycerol-3-phosphate acyltransferase from the chilling sensitive plant squash (*Cucurbita moschata*). *Plant Cell Physiol.*, 1987, 28: 1195 ~ 1201
- 11 Weber S, Wolter F P, Buck F, Frentzen M, Heinz E. Purification and cDNA sequencing of an oleate-selective acyl-ACP: sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase from pea chloroplasts. *Plant Mol. Biol.*, 1991, 17: 1067 ~ 1076
- 12 Nishida I, Sugiura M, Enju A, Nakamura M. A second gene for acyl- (acyl-carrier-protein): glycerol-3-phosphate acyltransferase in squash, *Cucurbita moschata* cv. Shirogikuza, codes for an oleate-selective isozyme: molecular cloning and protein purification studies. *Plant and Cell Physiol.*, 2000, 41 (12): 1381 ~ 1391