

柱型苹果花发育*SOC1* 基因的克隆与分析

孙晓茜, 戴洪义, 张玉刚*

(青岛农业大学园林园艺学院, 山东青岛 266109)

SOC1 基因是植物开花途径中的整合子基因之一, 联系植物开花途径中的光周期途径、春化途径、自主途径、赤霉素途径等, 在植物成花过程中起着非常重要的作用。本试验中利用柱型苹果的早花株系为试材, 克隆其 *SOC1* 基因, 为从分子水平上分析柱型苹果的早花机理以及为今后通过基因工程手段缩短苹果童期打下基础。

2010年6—8月每隔2周采集青岛农业大学莱阳试验站的柱型苹果杂交后代的早花株系‘95-31’、‘95-41’、‘95-45’、‘95-54’、‘95-76’果台枝顶芽(大部分果台枝发育成花芽), 去掉底部的木质部以及表面的毛鳞片, 用液氮冷冻放置于-70℃条件下保存备用。用CTAB法提取总RNA, 用SMARTTM PCR cDNA Synthesis Kit合成cDNA。根据果树和其他物种中已有的基因蛋白保守区域序列设计简并引物进行PCR扩增, 3'-RACE和5'-RACE参照Generacerkit操作说明进行, 根据两端RACE的结果对全长序列进行拼接和扩增, PCR产物回收后连接到克隆载体pMD18-T中进行序列测定。基因开放阅读框的分析和氨基酸的BLAST在<http://www.ncbi.nlm.nih>上进行, 功能保守区利用[Http://myhits.isb-sib.ch](http://myhits.isb-sib.ch)进行分析; 系统进化树的构建在<http://www.ebi.ac.uk>进行。

通过RT-PCR和RACE从柱型苹果早花株系的果台枝顶芽中扩增出*SOC1*的两个同源基因, 分别命名为*MdSOC1a*和*MdSOC1b*。该基因属于MADS-box基因家族。采用SMART和ScanProsite软件分析, *MdSOC1a*和*MdSOC1b*的第1~61个氨基酸为MADS盒结构域, 第88~178个为K盒结构域。*MdSOC1a*开放阅读框长度为708 bp, 编码235个氨基酸, 推测蛋白质分子量为26.95 kD, 等电点为9.13; *MdSOC1b*编码238个氨基酸, 开放阅读框长度为717 bp, 蛋白质分子量为27.49 kD, 等电点为9.61。*MdSOC1a*和*MdSOC1b*的编码区碱基序列相似性为83.49%, 氨基酸的相似性为73.72%, 与其他植物*SOC1*同源基因的相似性在50%以上, 其中与橙的*SOC1-2*的同源性最高。在构建的*SOC1*基因的系统进化树中, *MdSOC1a*与*MdSOC1b*与橙*SOC1-2*同源基因进化关系最近, 与拟南芥*SOC1*同源基因进化关系最远。苹果、橙、大岩桐关系较近而聚为一类, 而大豆、豇豆、葡萄、拟南芥、草莓和玉兰聚为一类。蛋白质二级结构预测显示, *MdSOC1a*蛋白有8个 α -螺旋, 5个 β 折叠区, 13个 β -转角; 而*MdSOC1b*蛋白有11个 α -螺旋, 7个 β 折叠区, 11个 β -转角。两者在蛋白质的二级结构上也存在着一定的差异, 说明这两个基因虽然有共同的起源, 但在基因结构上产生了一定的差异, 推测二者在花的发育中可能起不同的调控作用。

关键词: 苹果; 柱型苹果; *SOC1* 基因; 基因克隆; 序列分析

中图分类号: S 661.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) S-2455-01

收稿日期: 2011-07-11

基金项目: 国家现代苹果产业技术体系项目(CARS-28-01-07); 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金项目(BS2009NY023); 山东省良种产业化工程项目; 青岛农业大学高层次人才启动基金项目

* 通信作者(E-mail: zyg4458@163.com; Tel: 0532-86080752)