

梨贝壳杉烯氧化酶基因克隆及表达分析

欧春青^{1,2}, 宣利利^{1,2}, 姜淑苓^{1,2,*}, 王 斐^{1,2}, 程飞飞^{1,2}, 马 力¹,
李连文¹, 张静茹^{1,2}

(¹中国农业科学院果树研究所, 辽宁兴城 125100; ²农业部果树种质资源利用重点开放实验室, 辽宁兴城 125100)

‘中矮1号’是中国农业科学院果树研究所选育的我国第一个具有自主知识产权的梨矮化砧木。其树体矮化紧凑, 作中间砧亲和性好, 促进嫁接树矮化, 早结果, 早丰产, 品质优, 已在生产中推广栽培, 但其致矮的分子机理尚不清楚。本课题组前期对‘中矮1号’的矮生机制做了大量研究, 结果表明‘中矮1号’赤霉素含量低于其它乔化品种。前人在其它植物上的研究也发现植物的矮化与内源赤霉素、生长素等激素以及它们的相互作用有关。因此, 赤霉素在‘中矮1号’体内的合成可能对其高矮产生影响。贝壳杉烯氧化酶是赤霉素合成过程中的关键酶, ‘中矮1号’贝壳杉烯氧化酶基因的获得及表达分析对研究赤霉素在‘中矮1号’中的合成具有重要意义, 并为揭示其矮化的分子机理提供理论基础。

以‘中矮1号’的叶片为试材, 利用 RT-PCR 和 RACE 扩增方法, 克隆了贝壳杉烯氧化酶基因。对该基因序列及其编码的蛋白质序列进行了生物信息学分析, 并设计特异引物采用实时荧光定量的方法分析了该基因在‘中矮1号’和正常植株新梢不同生长阶段(生长初期、旺盛生长期、停止生长期)顶端叶片中的表达差异。

克隆的‘中矮1号’贝壳杉烯氧化酶基因全长1 672 bp, GenBank登录号为: JN106464.1。该基因编码区在1 ~ 1 545 bp之间, 推导编码一个由514个氨基酸组成的蛋白序列, 具有GNLLQLKEKKP, YGPYISY, DWRDFFPYL和VFHETLRK几段保守序列, 预测其分子量为52.55 kD, 等电点为7.58。其氨基酸序列与苹果(AAS68017.2)和草莓(AAR18407.2)的贝壳杉烯氧化酶氨基酸序列相似性分别为99%和98%, 进化分析表明三者同源。NCBI保守域分析表明获得的贝壳杉烯氧化酶属于细胞色素超家族P450系。SMART在线分析结果表明, 49 ~ 508 氨基酸位点区具有典型的细胞色素P450家族特性, 其中含有CYP450半胱氨酸血红素亚铁配体结合位点(FGTGKRVCAG), 氨基酸序列15 ~ 37是跨膜位点区。‘中矮1号’与乔化对照‘早酥’和母本‘锦香’贝壳杉烯氧化酶基因序列比对分析结果表明, 三者仅在核苷酸序列上存在个别碱基差异, 氨基酸序列完全一致。该基因在上述3个梨品种中的表达分析结果表明, 新梢生长初期的表达强弱表现为‘中矮1号’<‘早酥’<‘锦香’, 新梢生长中期到新梢停长期间, ‘中矮1号’和‘锦香’的表达量呈逐渐上升趋势, ‘早酥’则表现为逐渐下降的趋势, 期间各品种的表达量各有高低, 无明显规律, 因此, 该基因的表达强弱是否与‘中矮1号’自身矮化相关, 还需要做进一步研究证明。

关键词: 梨; 贝壳杉烯氧化酶; 表达; 矮化

中图分类号: S 661.2

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) S-2468-01

收稿日期: 2011-07-25

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项; 农业科技成果转化资金项目(2010GB23260565)

* 通信作者(E-mail: ochunqing@163.com; Tel: 0429-3598456)