

# 菠萝SERK基因的克隆与表达分析

马 均, 何业华\*, 曹 莉, 许文天, 郭翠红, 夏靖娴, 陈程杰

(华南农业大学园艺学院, 广州 510642)

在建立菠萝 (*Ananas comosus*) 体细胞胚发生体系和细胞学研究的基础上, 对其体细胞胚发生类受体蛋白激酶 (SERK) 基因进行了克隆和表达分析, 旨在探讨菠萝中 SERK 基因的存在状况、解析其结构和表达特征。以‘神湾’菠萝胚性愈伤组织作为材料。采用 trizol 法提取总 RNA 反转录合成第一链 cDNA。根据 NCBI 报道的其它物种 SERK 基因序列设计兼并引物, 扩增菠萝 SERK 基因片段, 再采用 RACE 方法扩增两端序列, 拼接出全长。再根据拼接结果设计引物进行 RT-PCR 扩增出全长。根据所得全长序列设计引物, 采用实时荧光 qPCR 对体细胞胚诱导过程中菠萝 SERK 基因 (*AcSERK*) 的表达量进行定量分析; 同时采用原位杂交显微观察菠萝 SERK 基因在体胚诱导过程中的表达模式。根据 *AcSERK* 表达模式, 推测其在体细胞胚发生过程中的作用。构建 *AcSERK* 的全长表达载体和干扰载体, 以胚性愈伤组织为材料进行农杆菌介导的遗传转化, 根据转基因植株的体细胞胚发生能力以验证 *AcSERK* 在体细胞胚发生中的功能。

从菠萝中分离出 3 个 *AcSERK*, 分别命名为 *AcSERK1*、2、3。经 ORF finder 软件分析显示, *AcSERK1* 全长 2 039 bp, 包含一个长 1 890 bp 的开放阅读框 (ORF), 编码 629 个氨基酸; ProtParam 软件分析其蛋白分子量约为 69.2 kD, 理论等电点 pI 约为 5.51, 分子式  $C_{3084}H_{4868}N_{850}O_{913}S_{23}$ 。 *AcSERK2* 全长 2 230 bp, 包含一个长 1 875 bp 的开放阅读框 (ORF), 编码 624 个氨基酸, 蛋白分子量约为 68.9 kD, pI 为 5.38, 分子式  $C_{3074}H_{4845}N_{843}O_{910}S_{24}$ 。 *AcSERK3* 全长 2 232 bp, 包含一个长 1 890 bp 的 ORF, 编码 629 个氨基酸, 蛋白分子量约为 69.6 kD, pI 约为 5.55, 分子式  $C_{3097}H_{4900}N_{852}O_{922}S_{24}$ 。采用 NCBI 的 Blast 软件进行核酸序列比对, 发现 *AcSERK* 与椰子 (*Cocos nucifera*, AY791293.2)、水稻 (*Oryza sativa*, AB188247.1) SERK 基因同源性达 79% ~ 83%; 3 个 *AcSERK* 核酸序列同源性达到 87.34%。3 个基因均具有 SERK 基因家族保守的内含子, 外显子结构。菠萝 SERK 蛋白与其他植物来源的 SERK 蛋白具有较高的相似性, 与椰子、水稻、大麦 (*Hordeum vulgare*) 等相似性达 88% ~ 90%。经 SignalP 软件分析, 3 个 *AcSERK* 均具有信号肽结构。采用 TMpred 程序预测出跨膜区域; 利用 PlantsP 和 ScanProsite 软件分析出 3 个菠萝 SERK 都具有典型的 SERK 蛋白的 5 个富亮氨酸重复 (LRR), 富脯氨酸结构域 (SPP), 跨膜区域 (TM) 和蛋白激酶区域 (Kinase) 以及一个丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性位点。qPCR 和原位杂交分析表明, *AcSERK1*、2、3 的表达都能被 2,4-D 高效诱导, 并且都在愈伤组织细胞由体细胞向胚性细胞转化以及胚性细胞形成球形胚的过程中表达。说明 *AcSERK1*、2、3 在菠萝愈伤组织细胞胚性获得和球形胚形成过程中发挥一定作用, 是在体胚诱导与形成过程早期承担一定功能的基因。

**关键词:** 菠萝; *AcSERK*; 克隆; 表达分析

**中图分类号:** S 668.3

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2011) S-2513-01

**收稿日期:** 2011-08-01

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (30971984); 农业部引进国际先进农业科学技术重点项目 (2010-G2-11)

\* 通信作者 (E-mail: heyehua@hotmail.com; Tel: 020-85288262)