

十字花科植物 *HSP22* 基因同源序列的克隆与进化分析

程 影^{1,2}, 黄锐芝³, 钟新民^{2,*}, 吴学龙³, 王五宏², 刘智宏³, 李必元²

(¹南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京 210095; ²浙江省农业科学院蔬菜研究所, 杭州 310021; ³浙江省农业科学院病毒学与生物技术研究所, 浙江省植物代谢基因工程试验基地, 杭州 310021)

采用 PCR 克隆技术, 根据已报道的拟南芥的 *AtHSP22.0* 基因全长及其它物种同源序列设计特异引物, 在十字花科植物大白菜、青菜、甘蓝型油菜 CY、花椰菜、芥菜、芥菜、萝卜、芥菜型油菜川黄中克隆得到耐热相关基因 *AtHSP22.0* 的同源序列。测序得到的各物种的 *HSP22* 基因核苷酸序列, 同 GenBank 中搜索获得拟南芥序列和亲缘关系较远的单子叶植物玉米的 *HSP22* 基因序列进行多序列联配。对得到的比对结果用 MEGA4.0 软件构建 NJ 系统树。相应氨基酸结构域及特性用 ExPasy 在线分析。二级结构用 Bioinformatics & Biological computing 在线分析。三维模型通过 SWISS-MODEL 完成。用 MOLMOL 对蛋白质的三级结构中多肽段定位, 并绘制三级结构图。

(1) 在十字花科多个物种中克隆得到耐热相关基因 *AtHSP22.0* 的同源序列, 上传 NCBI 获得登录号。序列比对分析表明, 这些同源序列的相似性达 89.3% 以上, 所推导的氨基酸序列相似性达 92.1% 以上。在核苷酸水平, 除拟南芥 *AtHSP22* 与其他各种属间核苷酸相似性在 90% 以下外, 其他物种在属内属间相似性均在 90% 以上, 表现出极高的相似性。在核苷酸序列上, 萝卜的第 54 位为碱基 A, 拟南芥为碱基 G, 但编码的氨基酸都为亮氨酸。虽然两者在核苷酸水平上存在差异, 但并未导致编码的氨基酸差异。

(2) 利用克隆的 *HSP* 基因的核苷酸及氨基酸序列和其他具有代表性的物种的 *HSP22* 基因及氨基酸序列构建系统进化树。核苷酸系统进化树结果显示大白菜 (*BcHSP22.1*) 和青菜 (*BcHSP22.2*) 先与甘蓝型油菜 (*BnHSP22.2*) 聚为一类, 后又与芥菜 (*CbHSP22*) 聚为一类; 芥菜型油菜 (*BjHSP22.3*) 与芥菜聚在一起; 花椰菜 (*BoHSP22.2*)、甘蓝型油菜 (*BnHSP22.1*) 聚为一类; 而与萝卜属 (*RsHSP22*) 和拟南芥属 (*AtHSP22*) 亲缘关系相对较远; 与单子叶植物纲的玉米 (*ZmHSP22*) 亲缘关系最远。从 *HSP22* 基因来看, 芥属植物芥菜其与芸薹属植物具有较近的亲缘关系, 由此可知 *HSP22* 基因在两物种分化早期就以形成。甘蓝型油菜 (*BnHSP22.1*) 与大白菜 (*BcHSP22.1*) 和花椰菜 (*BoHSP22.2*) 分别聚为一类, 其中花椰菜为甘蓝的变种。这与甘蓝型油菜来自于白菜型油菜与甘蓝的杂交种这一亲缘关系相符。而氨基酸系统进化树中, 芥菜首先与大白菜聚为一类, 然后才与青菜、甘蓝型油菜聚在一起。

(3) 由氨基酸序列预测的高级结构存在明显差异, 且无规则卷曲最多, α -螺旋均在 30% 以上, 因而属于 α 结构蛋白。这种高级结构的不同很可能导致功能上的差异。

关键词: *HSP22* 基因; 十字花科植物; 克隆; 进化分析

中图分类号: S 63

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) S-2531-01

收稿日期: 2011-08-17

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863) 项目 (2008AA02Z103); 浙江省农科院科技创新项目

* 通信作者 (E-mail: zxmily@hotmail.com; Tel: 0571-86404376)