

小美旱杨(*Populus popular's*) 蛋白激酶 *PpCIPK27* 基因的克隆及功能分析

王亚萍, 白玉娥

(内蒙古农业大学林学院, 呼和浩特 010019)

摘要: 蛋白激酶 (CIPK) 是由 Ca^{2+} 介导的植物信号通路中的关键基因, 在植物胁迫响应和生长发育中起关键作用。本研究从‘小美旱杨’中克隆 *PpCIPK27* 基因, 分析其序列特征和抗盐功能, 为杨树抗逆育种提供理论基础。依据毛果杨全基因组数据库 (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>), 利用同源序列比对结果设计引物, 克隆获得‘小美旱杨’*PpCIPK27* 基因的 DNA 和 cDNA 序列, 分析其序列特征; 利用实时荧光定量 RT-PCR(qRT-PCR)分析盐胁迫下 *PpCIPK27* 基因在小美旱杨地上部和根中的表达模式; 通过亚细胞定位和酵母单杂交方法验证其核定位功能和转录激活活性; 构建过表达载体, 进行异源转化拟南芥, 测定野生型及 *PpCIPK27* 过表达植株在 200mM 盐胁迫下的萌发率、根长及 MDA、 H_2O_2 、SOD、POD 含量。序列分析结果表明 *PpCIPK27* 基因 DNA 全长 2907 bp, 其中含有 3 个外显子和 2 个内含子; 该基因的完整开放阅读框序列全长 1137 bp, 编码 379 个氨基酸, 编码蛋白的相对分子量为 50.49 kDa, 理论等电点为 7.64, 具有典型 NAF 结构域; 盐胁迫处理下, *PpCIPK27* 表达水平在根及地上部均出现显著上调, 且在根中响应盐胁迫更强烈; 亚细胞定位和转录活性分析表明, 该基因可以定位到核里且具有转录激活活性; 构建过量表达载体将 *PpCIPK27* 转化拟南芥后发现, 转基因株系在盐胁迫培养基上的萌发率, 根长显著均高于野生对照; NaCl 胁迫处理下, 过表达 *PpCIPK27* 植株 H_2O_2 含量、MDA 含量明显低于野生对照, SOD 活性和 POD 活性明显高于野生对照。*PpCIPK27* 基因是一个能够定位到核里且具有转录激活活性的转录因子, 该转录因子在小美旱杨中受盐胁迫诱导表达量显著升高, 超表达 *PpCIPK27* 显著增强拟南芥的耐盐能力。研究结果表明 *PpCIPK27* 基因在耐盐胁迫中发挥重要作用。