

沙棘果肉棕榈油酸合成相关基因 *Δ9D* 的克隆及功能分析

赵博文 大连民族大学

摘要:【目的】*Δ9D* 是沙棘棕榈油酸合成的关键基因, 从沙棘中克隆 *Δ9D* 基因并分析其序列特征, 将 *Δ9D* 基因转入烟草分析其功能, 为分析沙棘棕榈油酸合成途径及日后沙棘棕榈油酸基因工程技术奠定基础。【方法】本研究将沙棘 *Δ9D* 基因利用叶盘法转入烟草后, 利用 NCBI 网站提供的在线软件进行 *Δ9D* 基因生物信息学分析。利用 GC-MS 测定脂肪酸含量, 分析转基因烟草棕榈油酸含量的变化。采用 qRT-PCR 技术测定 *Δ9D* 在转基因烟草中的基因表达量, 对得到的数据综合分析鉴定 *Δ9D* 基因的功能。【结果】试验结果表明: 利用 NCBI 数据库进行分析, *Δ9D* 基因 ORF 序列的长度为 1152bp。*Δ9D* 蛋白编码氨基酸个数为 1152 个, 相对分子质量为 96158.33, 等电点 (PI) 为 5.07, 正负电荷残基均为 0, 平均疏水性为 0.618, 疏水性最大值为 2.361, 最小值为-2.612, 总体来看疏水区和亲水区分布均匀。*Δ9D* 蛋白由 138 个 α -螺旋、59 个延伸链、16 个 β -转角、170 个无规则卷曲构成, 分别占据 36.03%、15.40%、4.18%、44.39%。采用 GC-MS 仪器测定烟草的脂肪酸含量, 棕榈油酸 C16:0 由对照组的 20% 平均增加到 23.1%, C16:1 由对照的 2.5% 平均提高至 3.8%, C16:2 由对照的 0.57% 增到 0.77%; C16:3 含量有所降低, 由对照的 8.4% 降到了 8.16%, C18:0 和 C6:0 由对照的 5.85% 降到 5.53%, C18:2 由对照组 15.27% 降至 14.37%, C18:3 由对照组 41% 降至 37.83%; C18:1 的含量变化不明显。*Δ9D* 基因可以提高转基因烟草叶片棕榈油酸含量。qRT-PCR 结果表明在 5 组转 *Δ9D* 烟草株系 L1—L5 中, L1 的表达量略低, L2-L5 的平均表达量为 17.99, 明显高于对照组。转基因植株表达量明显高于对照组。【结论】在烟草中过表达 *Δ9D* 基因可以有效提高转基因植株棕榈油酸合成途径基因表达, 从而促进棕榈油酸积累, 这表明沙棘 *Δ9D* 基因在棕榈油酸合成过程中具有重要作用。

关键词: 沙棘; *Δ9D* 基因; 转基因烟草; 基因表达