

新疆野苹果种子 MsWRKY33 基因的克隆、亚细胞定位及表达分析

李静¹ 房震¹ 叶春秀^{3*}

(1 新疆农业大学林学与风景园林学院, 乌鲁木齐 830000)

摘要【目的】WRKY 转录因子通过调节种子休眠和发芽来适当介导生命周期的启动。为探究新疆野苹果种子 *WRKY33* 转录因子在低温层积中的作用机理, 本研究通过对新疆野苹果 (*Malus sieversii* (Ledeb.) M. Roem.) 种子 *MsWRKY33* 进行克隆, 并对其进行生物信息学分析、亚细胞定位及不同低温层积时期种子的基因表达量水平检测。初步揭示 *MsWRKY33* 基因在新疆野苹果种子低温层积下的功能, 为探究其参与休眠调控机理奠定基础。【方法】本研究采用沙藏法进行低温 (4℃) 层积处理, 常规保存 (室温) 种子作为对照, 以 0d、30d、60d、90d 处理的新疆野苹果种子种胚为研究材料, 提取种胚 RNA, 利用同源重组的方法克隆 *MsWRKY33*, 测序后进行生物信息学分析; 通过构建表达载体进行亚细胞定位分析; 以及通过实时荧光定量 (qRT-PCR) 分析新疆野苹果种子在不同低温层积时期 *MsWRKY33* 的表达水平。【结果】(1) *MsWRKY33* 全长 CDS 序列为 1560bp, 编码 520 个氨基酸。保守结构域和系统进化分析表明, *MsWRKY33* 是一个 Group I 家族 WRKY 转录因子成员。(2) 序列相似性和系统进化树分析结果显示: 新疆野苹果 *MsWRKY33* 与 NP_01281056.1 (栽培苹果 *Malus domestica*)、XP_050143309.1 (欧洲野苹果 *Malus sylvestris*) 序列相似性度极高, 亲缘关系最近。(3) 亚细胞定位分析显示 *MsWRKY33* 定位在细胞核中。(4) 不同低温层积时期 qRT-PCR 表达分析发现, *MsWRKY33* 基因在低温层积 60d 时表达水平最高, 显著高于未层积时表达量。【结论】新疆野苹果种子基因 *MsWRKY33* 在低温层积过程对解除种子休眠具有调控功能。

关键词: 新疆野苹果; 种子; WRKY; 亚细胞定位; 表达分析

3 基金项目: 新疆农业大学高层次人才引进项目“基于转录组的新疆野苹果种子休眠机理研究”(2521GCCRC)

*叶春秀为通讯作者