

油茶皂苷糖基转移酶全基因组鉴定及表达功能研究*

张路红^{1, 2} 陈韵竹² 王义强¹ 李昌珠²

(1.中南林业科技大学生命与环境科学学院 长沙 410004; 2.湖南省林业科学院木本油料资源利用国家重点实验室 长沙 410004)

摘 要:【目的】糖基化是植物天然产物中的一种重要修饰,可将糖苷配基转化为性质更稳定、结构和生物活性多样的糖苷化合物。油茶皂苷在皂苷元取代位点上有多种糖基修饰,以增加油茶皂苷的生物活性、溶解度和功能多样性。油茶皂苷主要来源于油茶榨油后饼粕中,但往往为粗制的皂苷混合物,且纯化过程繁琐生产成本攀升,其本身复杂的立体构型,又给油茶皂苷化学全合成带来不少挑战,因而限制了油茶皂苷单体的规模化应用,而现代合成生物学的发展使得天然产物的异源合成功效产物成为可能。【方法】本研究利用 HPLC-MS 检测代谢产物,利用现代基因组、转录组多组学联合生信分析挖掘油茶皂苷生物合成关键候选糖基转移酶基因,利用基因重组技术在原核真核体系中诱导表达目标酶基因并进行酶促反应,验证功能化产物。【结果】从油茶基因组数据库中共鉴定获得 438 个糖基转移酶家族成员,对获得的候选基因进行隐马尔科夫模型 HMM 和糖基转移酶 PSPG 基序分析,调取筛选候选基因在油茶种仁不同发育时期的 FPKM 表达量,共获得 29 个高表达量的候选基因,对其进行蛋白跨膜结构域预测、亚细胞定位预测、蛋白物理和相关生化特征分析。随后以油茶种仁中提取的 RNA 为模板,进行候选糖基转移酶基因克隆,分别得到 2 个可能具有催化葡萄糖醛酸转移酶的基因 (*CoCSLs*), 2 个催化阿拉伯糖糖基转移酶的基因 (*CoARAs*) 和 2 个催化半乳糖糖基转移酶的基因 (*CoGALs*)。进一步,本研究利用重组载体,分别将其转入到酿酒酵母和大肠杆菌菌株中进行表达,并进行 SDS-PAGE 蛋白检测,并对得到的粗酶进行酶促反应,检测其催化功能和底物杂泛性。【结论】本研究解析了五环三萜型油茶皂苷的糖基修饰途径,为解析萜类化合物的合成途径的关键糖基转移酶基因提供参考,同时为最终在异源表达体系中实现以油茶皂苷元为底物合成多糖基修饰的油茶皂苷,为异源高效生产油茶五环萜化合物提供技术支撑。

关键词: 油茶; 糖基转移酶; 基因家族; 皂苷生物合成