

论文

大蒜蒜氨酸酶基因克隆与序列分析及毕赤酵母表达质粒的构建

吴晓莉¹, 许健¹, 张婷¹, 贾平², 周云凯¹

摘要:

根据GenBank登录的蒜氨酸酶序列(S73324)设计上下游引物,利用RT-PCR技术从浙江大蒜鳞茎中扩增蒜氨酸酶基因,获得了长度为1 523 bp的cDNA序列,提交GenBank(登录号: FJ786257,命名为浙江蒜氨酸酶)。利用生物信息学相关软件对该序列进行同源性比较、进化分析、蛋白质的结构和酶活性中心预测,引用pPICZaC载体构建蒜氨酸酶毕赤酵母真核表达重组质粒。结果表明:浙江蒜氨酸酶与其他葱属植物如大蒜、洋葱、冬葱、火葱和细香葱蒜氨酸酶具有高度同源性,进化关系比较接近,目的基因可以成功构建到毕赤酵母表达载体。浙江蒜氨酸酶三维结构呈树枝状,蛋白质分子的N端含有一个类似表皮生长因子结构域,酶的中心含一个天冬氨酸氨基转移酶超家族结构域;蛋白质结构中Lys 277可能是磷酸吡哆醛的结合位点,Lys 277周围区域可能是酶活性中心部位。重组质粒经鉴定构建正确。

关键词: 蒜氨酸酶 大蒜 克隆 序列分析 毕赤酵母

Cloning and Sequence Analysis of Alliinase Gene from Garlic and Construction of Pichia pastoris Expression Plasmid

WU Xiao-li¹, XU Jian¹, ZHANG Ting¹, JIA Ping², ZHOU Yun-kai¹

1. College of Life Science, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China|2. Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China

Abstract:

Primers were designed based on the reported sequences of alliinase(S73324)in GenBank. The cDNA gene encoding alliinase protein was extracted from Zhejiang garlic bulb by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). PCR product was about 1 523 bp of cDNA segment. The sequence was submitted to GenBank(accession number: FJ786257), named Zhejiang alliinase (ZJ alliinase). ZJ alliinase was compared with the other alliinases reported in aspect of homology and evolution, the protein structure and the enzyme active center were also predicted by bioinformatics softwares. The Alliinase gene was cloned to the pPICZaC vector to construct the Pichia pastoris expression plasmid. The results showed the high similarity and approximation to those sequences of alliinase such as garlic, onion, scallion, allium ascalonicum and chive, the target gene was successfully inserted to the pPICZaC vector. The three dimensional structure of ZJ alliinase was arborization. A EGF like domain was in the ZJ alliinase Nterminal, and an aspartate aminotransferase (AAT) superfamily domain was in its center. The amino acid residue Lys277 could be the combining site of pyridoxal phosphate, and the sequence around it could be the potential enzyme active center. The pPICZaCalliinase recombination plasmid was completely accurate by using restrictional enzyme assay, plasmid PCR identification and recombinant plasmid sequence analysis.

Keywords: alliinase garlic cloning sequence analysis Pichia pastoris

收稿日期 2009-09-04 修回日期 2010-03-22 网络版发布日期

DOI:

基金项目:

浙江省教育厅资助项目(Y200805242),浙江中医药大学校级重点资助项目(2009ZZ05)

通讯作者:

扩展功能

本文信息

- ▶ Supporting info
- ▶ PDF(1060KB)
- ▶ [HTML全文]
- ▶ 参考文献[PDF]
- ▶ 参考文献

服务与反馈

- ▶ 把本文推荐给朋友
- ▶ 加入我的书架
- ▶ 加入引用管理器
- ▶ 引用本文
- ▶ Email Alert
- ▶ 文章反馈
- ▶ 浏览反馈信息

本文关键词相关文章

- ▶ 蒜氨酸酶
- ▶ 大蒜
- ▶ 克隆
- ▶ 序列分析
- ▶ 毕赤酵母

本文作者相关文章

PubMed

作者简介: 吴晓莉,女,硕士,讲师,主要从事中西医结合抗肿瘤研究。

作者Email:

参考文献:

本刊中的类似文章

1. 郜玉钢, 杨鹤, 于英, 臧埔, 刘霞, 张连学. 人参HMGR基因的克隆与序列分析[J]. 吉林农业大学学报, 2010,32(5): 500-504
2. 巴恒星, 邢秀梅, 李春义, 杨福合. 东北马鹿Myostatin基因编码序列的克隆及序列分析[J]. 吉林农业大学学报, 2010,32(2): 200-204
3. 史勇, 张明军, 张英, 李莉, 汤丹, 刘松财. 甜味蛋白Brazzein基因酵母表达系统的建立[J]. 吉林农业大学学报, 2010,32(1): 43-46
4. 张维, 王君玮, 李林, 赵永刚, 任炜杰, 王志亮. 貂、貉源犬瘟热病毒流行毒株H基因的克隆及遗传多样性分析[J]. 吉林农业大学学报, 2010,32(1): 75-80
5. 陈涛, 赵建军|张海玲, 吴威, 钱爱东|闫喜军. 水貂肠炎病毒B株全基因克隆与序列分析[J]. 吉林农业大学学报, 2010,32(1): 81-85
6. 杨红文, 王春风, 栗朝芝, 韦毕芬, 李洪曙. 猪围脂滴蛋白基因cDNA部分片段的克隆及序列分析[J]. 吉林农业大学学报, 2010,32(1): 104-107
7. 郝凤奇|王春风|杨桂连|叶丽萍|杨中娜. 牛乳中乳酸乳球菌 nisRK 基因的克隆与序列分析[J]. 吉林农业大学学报, 2010,32(1): 108-112
8. 蔡亚南, 张晓雷|高瑞峰|杨桂连|徐鹏|赵权. 猪囊尾蚴头节蛋白双抗体夹心ELISA检测方法 的建立及初步应用[J]. 吉林农业大学学报, 2010,32(6): 675-679
9. 杨舒心, 朱明娴, 孙长江, 谢芳, 雷连成. 鹿血双抗体夹心间接ELISA检测方法的建立[J]. 吉林农业大学学报, 2010,32(4): 440-442
10. 林攀, 刘乃芝, 赵云蛟. 吉林地区马铁菊头蝠MHC II DRB基因第2外显子的克隆及序列分析[J]. 吉林农业大学学报, 2010,32(4): 447-452

文章评论

反馈人	<input type="text"/>	邮箱地址	<input type="text"/>
反馈标题	<input type="text"/>	验证码	<input type="text"/> 3011