园艺学报 » 2013, Vol. 40 » Issue (1) :32-40 DOI:

果树

平榛脱水素基因的克隆与表达分析

陈新, 梁丽松, 马庆华, 赵天田, 刘庆忠, 王贵禧

（1 山东省果树研究所，山东泰安 271000；2 中国林业科学研究院林业研究所，林木遗传育种国家重点实验室，北京 100091）

Cloning and Expression Characteristics of a Novel Dehydrin Gene from Hazelnut（*Corylus heterophylla* Fisch.）

CHEN Xin, LIANG Li-Song, MA Qing-Hua, ZHAO Tian-Tian, LIU Qing-Zhong, WANG Gui-Xi

（1Shandong Institute of Pomology, Tai' an, Shandong 271000, China; 2State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China）

摘要 以平榛（Corylus heterophylla Fisch.）花芽为试材，采用RT-PCR和RACE方法克隆了一个平榛与脱水素基因同源的cDNA基因，命名为ChDHN（GenBank登录号HM228389），其全长639 bp，具有一个504 bp的潜在编码区，编码167个氨基酸组成的多肽，具有LEA类家族成员具有的特征多肽序列，属于Y_4SK_2类型DHN基因，预测ChDHN蛋白质分子量18.03 kD，预测其理论等电点为7.28。对ChDHN的时空表达特性进行了研究，以Actin为内参，对ChDHN在4 ℃冷激条件下（0、2、4、8、24和48 h）的表达模式进行了初步的研究，冷激处理后ChDHN表现逐渐上调的表达趋势，24 h达到最大表达量，48 h表达量降低；推测ChDHN属于植物冷适应调节网络中的应答基因；定量RT-PCR分析ChDHN在不同器官中的表达，在种子中高丰度表达，其次是雄花序和花芽，在树皮中表达最低。用PCR、酶切和测序鉴定等方法检测已成功构建重组表达载体pET-32a(+)-DHN，将鉴定完全正确的重组质粒转化大肠杆菌BL21(DE3)，经SDS-PAGE分析并经过Western blotting鉴定，表明重组蛋白被IPTG诱导后高效表达出一条比预测分子量18.03 kD大4 kD的融合蛋白。

关键词： 平榛 ChDHN qRT-PCR 原核表达

Abstract： A cDNA encoding the dehydrin-like gene homologue was isolated from hazelnut（Corylus heterophylla Fisch.）by RACE-PCR and designated ChDHN（GenBank accession No. HM228389）. Sequence analysis showed that cDNA of ChDHN was 639 bp long and contained a single open reading frame. The predicted ChDHN protein has 167 amino acids with an estimated molecular mass of 18.03 kD and an isoelectric point of 7.28，qRT-PCR analysis showed that the expression of ChDHN was induced by low temperature and peaked at 24 h after exposed to low temperatures of 4 ℃. The transcripts of ChDHN appeared in many hazelnut tissues including male inflorescence，bark，flower bud and seeds，but mostly accumulated in seeds. the prokaryotic expression plasmid of pET-32a(+)-DHN was sequenced，digested by restricted endonuclease enzyme of Sac Ⅰ and EcoR Ⅰ simultaneously，meanwhile induce it to be expressed in E. coli BL21 by IPTG，SDS-PAGE analysis and Western blot results showed that the recombinant plasmid pET-32a(+)-His-DHN could be expressed a 4 kD larger molecule mass than predicted molecule mass of fusion protein.

Keywords： hazelnut, ChDHN, qRT-PCR, prokaryotic expression

引用本文:

陈新, 梁丽松, 马庆华等 .平榛脱水素基因的克隆与表达分析[J] 园艺学报, 2013,V40(1): 32-40

CHEN Xin, LIANG Li-Song, MA Qing-Hua etc .Cloning and Expression Characteristics of a Novel Dehydrin Gene from Hazelnut（*Corylus heterophylla* Fisch.）[J] ACTA HORTICULTURAE SINICA, 2013,V40(1): 32-40

链接本文:

http://www.ahs.ac.cn//CN/ 或 http://www.ahs.ac.cn//CN/Y2013/V40/I1/32

没有本文参考文献

[1] 赵芹, 李华平, 谢大森, 何晓明, 张曙光, 罗少波.番木瓜环斑病毒外壳蛋白基因原核表达蛋白的抗血清制备及其检测应用[J]. 园艺学报, 2012,39(8): 1457-

[2] 董银行, 郭家选.葡萄果实β-葡萄糖苷酶基因克隆、原核表达及活性检测[J]. 园艺学报, 2012,39(6): 1073-1080

[3] 唐红姝, 刘道凤, 薛璟祺, 欧阳琳, 孙翠慧, 马男, 高俊平.月季乙烯受体基因的全长克隆及原核表达分析[J]. 园艺学报, 2012,39(12): 2421-2430
[4] 隋炯明, 何心凤, 郭真, 李广存, 王晶珊, 郭宝太.马铃薯卷叶病毒缺失突变CP基因的原核表达及抗血清的制备[J]. 园艺学报, 2012,39(10): 1949-1957
[5] 武改霞;李婷婷;孙现超;;青 玲 .温州蜜柑萎缩病毒小外壳蛋白基因克隆与原核表达及其抗体制备[J]. 园艺学报, 2012,39(1): 64-72
[6] 钟 翡;沈欣杰;刘 芳;袁华招;刘兰英;李天红;.甜樱桃DELLA蛋白基因*PaGAI*的克隆与表达分析[J]. 园艺学报, 2012,39(1): 143-150
[7] 李 玲;王 慧;谭 钺;王 宇;陈修德;李冬梅;高东升 .桃花芽休眠解除SSH文库构建及相关基因表达分析[J]. 园艺学报, 2011,38(12): 2273-2280
[8] 李明军;刘 军;梁 东;郭春苗;马锋旺.猕猴桃*GaIUR*表达与抗坏血酸积累的关系[J]. 园艺学报, 2011,38(09): 1641-1649
[9] 谭远军;薛璟祺;仝 征;马 男;高俊平;.切花月季ACC合成酶基因的克隆和原核表达[J]. 园艺学报, 2010,37(7): 1132-1138
[10] 常晓晓;饶景萍;刘 乐.柿果实扩张蛋白基因cDNA克隆及原核表达[J]. 园艺学报, 2010,37(7): 1139-1146
[11] 洪克前;邝健飞;陆旺金;陈建业.香蕉果实转录因子MaWRKY1基因的原核表达和多克隆抗体制备[J]. 园艺学报, 2010,37(12): 1929-1929－1936
[12] 吴育鹏;王健华;冯团诚;张雨良;王小明;刘志昕;.辣椒脉斑驳病毒CP基因的原核表达及其抗血清的制备[J]. 园艺学报, 2010,37(10): 1598-1604
[13] 潘丽晶;张妙彬;范干群;陈伟庭;曹友培.石斛兰dfr基因的克隆、序列分析及原核表达[J]. 园艺学报, 2010,37(1): 129-134
[14] 郭长奎;罗淑萍;李疆;高启明.扁桃*AcSFB*基因的克隆与原核表达分析[J]. 园艺学报, 2009,36(8): 1215-1220
[15] 杨 洋;高启国;宋 明;牛 义;汤青林;朱利泉;王小佳.甘蓝自交不亲和决定因子的体外表达和相互作用的检测[J]. 园艺学报, 2009,36(3): 355-362