

园艺

不结球白菜硝酸还原酶基因BcNR的克隆及其在拟南芥中的转化

南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室

收稿日期 2008-2-27 修回日期 2008-5-5 网络版发布日期 2009-2-10 接受日期 2009-3-16

摘要

【目的】克隆不结球白菜硝酸还原酶基因(BcNR),并转化拟南芥做初步的功能鉴定。**【方法】**采用分段RT-PCR及3'RACE和5'RACE技术克隆了BcNR基因的全长cDNA,利用生物信息学方法进行序列分析和蛋白结构分析。构建pCAM-BcNR植物过量表达载体,通过农杆菌介导的真空渗透法将其转入野生拟南芥中,经抗性筛选及PCR验证获得T0代转基因植株,用Real-time PCR方法对30 mmol·L⁻¹ KNO₃溶液处理的转基因拟南芥的硝酸还原酶基因表达进行检测,并测定转基因植株的硝酸还原酶活性。**【结果】**获得了编码不结球白菜硝酸还原酶基因(BcNR)的cDNA全序列3 049 bp,包含有2 733 bp的开放阅读框,编码910个氨基酸。其氨基酸序列与拟南芥、烟草、甘蓝型油菜、马铃薯等编码的氨基酸序列具有较高同源性。蛋白质结构域分析表明,所推导的氨基酸序列具有完整的硝酸还原酶结构,同时证明从不结球白菜中克隆的这条基因属于NADH-NR型。GenBank登录号为EU662272。转基因拟南芥T0代植株进行GUS基因PCR检测,证明重组质粒已整合到转基因植株基因组中。硝酸盐处理后的转基因植株硝酸还原酶基因的表达比野生型显著提高,且硝酸还原酶活性有不同程度的提高。**【结论】**本研究首次从不结球白菜中克隆获得BcNR基因的全长cDNA序列,揭示了其序列特征并对其进行了初步的功能鉴定,为进一步利用该基因开展蔬菜硝酸盐含量的基因调控研究奠定了基础。

关键词 [不结球白菜](#) [硝酸还原酶](#) [克隆](#) [功能鉴定](#)

分类号

DOI:

通讯作者:

侯喜林 hxl@njau.edu.cn

作者个人主页:

扩展功能

本文信息

▶ [Supporting info](#)

▶ [PDF](#) (OKB)

▶ [\[HTML全文\]](#) (OKB)

▶ [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](#)

相关信息

▶ [本刊中包含“不结球白菜”的相关文章](#)

▶ 本文作者相关文章

· [孙菲菲, 侯喜林, 李英, 高红亮, 张昌伟](#)