

罗汉果葡萄糖基转移酶基因的克隆及原核表达

邢爱佳¹, 马小军^{2,3,*}, 莫长明^{1,3}, 潘丽梅^{3,4}, 韦鹏霄¹, 唐春风^{3,4}, 唐其^{3,4,*}

(¹广西大学农学院, 南宁 530004; ²中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100193; ³广西壮族自治区药用植物园, 南宁 530023; ⁴广西药用资源保护与遗传改良重点实验室, 南宁 530023)

摘要: 从罗汉果 (*Siraitia grosvenorii*) 转录组中获得一条与罗汉果甜苷 V 生物合成相关的葡萄糖基转移酶 (UDPG) 的 unigene 片段, 以罗汉果授粉后 70 d 的果实 RNA 为模板, 利用 RACE 和 RT-PCR 技术克隆 UDPG 全长基因, 将克隆得到的 *SgUDPG1* 基因连接到原核表达载体 pEASY-E1 上, 构建融合表达载体, 转化到大肠杆菌 BL21 (DE3), 通过 IPTG 诱导表达, 重组蛋白纯化, SDS-PAGE 检测表达产物以及 Western-blotting 和质谱鉴定蛋白产物。结果表明, 获得了 1 条 *SgUDPG1*, 全长为 1 959 bp, 开放阅读框 ORF 为 1 365 bp, 编码 1 条 454 aa 的肽链, 理论分子量为 51.2 kD, 等电点为 5.39, 具有植物中次生代谢产物糖基转移酶特有的保守结构域 PSPG-box motif。*SgUDPG1* 在授粉后 50 d 和 70 d 的果实中表达逐渐升高, 是对照授粉后 3 d 的 5.16 倍和 13.12 倍, 与果实中甜苷 V 含量呈相同趋势。此基因的 ORF 可以在大肠杆菌中表达, 并且可以纯化出比理论分子量大 5.3 kD 的融合蛋白, 通过 Western-blotting 和质谱鉴定, 确定该蛋白属于罗汉果葡萄糖基转移酶。

关键词: 罗汉果; 葡萄糖基转移酶; RACE; 原核表达; 融合蛋白

中图分类号: S 567.23⁺9

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2013) 06-1195-10

Cloning and Prokaryotic Expression of UDP-glycosyltransferase in *Siraitia grosvenorii*

XING Ai-jia¹, MA Xiao-jun^{2,3,*}, MO Chang-ming^{1,3}, PAN Li-mei^{3,4}, WEI Peng-xiao¹, TANG Chun-feng^{3,4}, and TANG Qi^{3,4,*}

(¹Agricultural College of Guangxi University, Nanning 530004, China; ²Institute of Medicinal Plant Development, China Academy Medicinal Science, Chinese Peking Union Medical College, Beijing 100193, China; ³Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plant, Nanning 530023, China; ⁴Key Laboratory of Guangxi Medicinal Resource Conservation and Genetic Improvement, Nanning 530023, China)

Abstract: Cloning, sequence analysis of the UDP-glycosyltransferase gene from *Siraitia grosvenorii* and its expression in *E. coli* were conducted to further explore the relationship between *SgUDPG1* expression and mogroside V biosynthesis. The UDP-glycosyltransferase cDNA fragments amplified from *Siraitia grosvenorii* transcriptome by rapid amplification of cDNA ends (RACE) and RT-PCR, and then the cloned gene of *SgUDPG1* was inserted into vector pEASY-E1. The recombinant plasmid pEASY-E1-*SgUDPG1* was expressed in a prokaryotic expression system after it was transformed into

收稿日期: 2013-01-14; **修回日期:** 2013-03-22

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30960500); 国家“十二五”科技支撑计划项目 (2011BA101B03); 广西自然科学基金项目 (2013GXNSFB019170); 广西卫生厅中医药科技专项项目 (GZPT1235); 广西研究生科研创新项目 (T32560)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: xjma@public.bta.net.cn; tangqi423@sina.com)