

不同植物种类络合素合酶基因的特征分析

姜倩倩, 曹 慧

(潍坊学院, 山东省高校生物化学与分子生物学重点实验室, 山东 潍坊 261061)

摘 要:植物络合素合酶(Phytochelatins synthases, PCS)是催化谷胱甘肽(GSH)聚合生成植物络合素(PCs)的关键酶,在缓解重金属胁迫方面具有重要作用。该研究采用 ProtParam、TMHMM、SignalP、Phyre2、Pfam、Clustal X 和 MEGA 等生物信息学在线程序及软件,对苹果、湖北海棠和已在 GenBank 上登录的杜梨、拟南芥、水稻、烟草和百脉根等植物的络合素合酶(PCS)基因的核酸及氨基酸序列、理化性质、蛋白结构、系统发生树和功能域等进行了分析。结果表明:PCS 蛋白氨基酸长度在 465~506 aa,理论等电点在 5.67~7.77。PCS 蛋白主要定位于细胞核中,除金鱼藻外,其它植物 PCS 蛋白均为不稳定蛋白。二级结构由 α 螺旋、无规则卷曲和延伸链等元件构成,空间结构高度相似。均具有一个植物络合素合酶(Phytochelatins)功能域,并具有 3 个预测的活性位点,属于植物络合素合酶蛋白家族。该研究为今后深入研究苹果中该基因的结构特征和功能提供了依据。

关键词:植物络合素合酶;理化性质;系统进化;序列及结构分析

中图分类号:Q 946.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)21-0110-07

近年来,土壤的重金属污染问题日益严重。目前,在中国受到重金属污染的耕地面积近 2 000 万 hm^2 ,约占总耕地面积的 1/5^[1]。在重金属污染胁迫下,植物会启动多种不同的防御机制来降低重金属离子对细胞的毒害。其中,通过生物合成一种或几种配体化合物,在细胞内络合重金属并以复合物的形式进行区域化隔离,是植物和其它一些生物中普遍存在的重金属解毒机制。

植物络合素(Phytochelatins, PCs)是重金属胁迫诱导产生的一种由半胱氨酸、谷氨酸和甘氨酸残基组成的低分子量富含巯基的螯合多肽,通常结构为(γ -Glu-Cys) $_n$ -Gly(其中 $n=2\sim 11$),可以与游离的重金属离子发生络合作用形成复合物,并将其区域化隔离在液泡中而实现解毒功能^[2]。PCs 是由植物络合素合酶(Phytochelatins synthases, PCS)以谷胱甘肽为底物催化合成的^[3-4]。不同的重金属离子对植物 PCS 的诱导能力存在差异,其中 Cd^{2+} 是最佳的金属催化剂。目前已在多种植物中克隆

并分析了 PCS 基因的功能,包括拟南芥^[5-6]、小麦^[7]、芥菜^[8]、大蒜^[9]、百脉根^[2]、毛白杨^[10]和湖北海棠^[11]等。

利用分子生物学数据库和软件对核酸和蛋白质序列进行分析,从而推断并预测其结构和功能,已成为生物信息学研究的一种趋势,也是初步确定基因的结构及功能的一种捷径^[12]。该研究采用生物信息学分析的方法,以苹果(*Malus domestica*)为主要对象,对湖北海棠(*Malus hupehensis*)、杜梨(*Pyrus betuli folia*)、百脉根(*Lotus japonicus*)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、烟草(*Nicotiana tabacum*)、水稻(*Oryza sativa*)和盐地碱蓬(*Suaeda salsa*)等不同植物 PCS 基因的核苷酸及氨基酸的序列、理化性质、结构特点和功能域等进行了分析和预测,以期为进一步揭示植物络合素合酶基因的结构和功能及阐明其在重金属解毒过程中所起的作用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以不同植物 PCS 基因的核苷酸序列为试材。

1.2 试验方法

1.2.1 序列来源 序列包括湖北海棠(*Malus hupehensis*) PCS 基因序列(该实验室克隆)和在苹果(*Malus domestica*)基因组数据库找到的 PCS 基因拷贝 MDP0000205935(chr10:18224737..18228050 (+ strand))。另从 NCBI GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>)中下载已登录的不同植物 PCS 基因的核苷酸序列及其对应的氨基酸序列(表 1)。

第一作者简介:姜倩倩(1983-),女,博士,讲师,现主要从事果树逆境生理与分子生物学等研究工作。E-mail:jiangqq5238@163.com。
责任作者:曹慧(1966-),女,山西太谷人,博士,教授,现主要从事果树逆境生理与分子生物学研究工作。E-mail: hui5232@163.com。

基金项目:国家现代苹果产业技术体系资助项目;山东省自然科学基金资助项目(Y2007D60);潍坊市科技发展计划资助项目(20121303);潍坊学院博士基金资助项目(2012BS18)。

收稿日期:2013-06-17







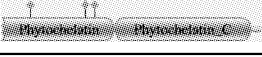
表 1 不同植物 PCS 基因的核苷酸序列及其
对应氨基酸序列的登录号Table 1 The accession No. of nucleotide sequence and
their amino acid sequences from different plant PCS genes

植物种类 Plant species	拉丁学名 Latin name	GenBank 登录号 Accession No.	蛋白登录号 Protein id.
拟南芥	<i>Arabidopsis thaliana</i>	AF085230.1	AAD16046.1
水稻	<i>Oryza sativa</i>	AF439787.2	AAO13349.2
烟草	<i>Nicotiana tabacum</i>	AY235426.1	AAO74500.1
大蒜	<i>Allium sativum</i>	AF384110.1	AAO13809.1
芥菜	<i>Brassica juncea</i>	AB057416.1	BAB85602.1
马铃薯	<i>Solanum tuberosum</i>	AJ548469.1	CAD68107.1
银合欢	<i>Leucaena leucocephala</i>	GU205821.2	ACL00594.3
盐地碱蓬	<i>Suaeda salsa</i>	KC109195.1	AGC82138.1
百脉根	<i>Lotus japonicus</i>	BT147671.1	AFK47465.1
杜梨	<i>Pyrus betuli folia</i>	JN592476.1	AEY68568.1
天蓝遏蓝菜	<i>Thlaspi caerulescens</i>	AB085627.1	BAB93120.1
油菜	<i>Brassica napus</i>	AM265632.2	CAK24968.2
田菁	<i>Sesbania rostrata</i>	DQ013293.1	AAV83876.1
裂叶苜蓿菜	<i>Sonchus oleraceus</i>	GQ372840.1	ACU44656.1
莴苣	<i>Lactuca sativa</i>	AY618896.1	AAU93349.1
金鱼藻	<i>Ceratophyllum demersum</i>	HM855235.1	ADR10438.1
芦苇	<i>Phragmites australis</i>	JX826285.1	AFU06381.1
狗牙根	<i>Cynodon dactylon</i>	AF384111.2	AAO13810.2
荞麦	<i>Fagopyrum esculentum</i>	AB355645.1	BAF75863.1
蜈蚣草	<i>Pteris vittata</i>	HM559477.1	ADR51704.1

1.2.2 序列分析 利用 ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam/>)在线工具分析核酸及氨基酸序列的组成成分及理化性质。利用 Compute pI/Mw tool (http://web.expasy.org/compute_pi/)分析相对分子量及理论等电点。分别利用 TMHMM 2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>)、ProtScale (<http://web.expasy.org/cgi-bin/protscale/protscale.pl>)、SignalP 4.1 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>)^[13] 和 Plant-mPLOC (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/>)

表 2 不同植物 PCS 蛋白的理化性质分析

Table 2 Analysis of physical and chemical properties of the PCS proteins from different plants

物种 Species	组成及性质 Composition and character						
	氨基酸数目 Amino acid/aa	分子量 Molecular weight/Da	等电点 pI	不稳定系数 Instability index	亚细胞定位 Subcellular localization	活性位点 Active sites	功能域 Functional domains
天蓝遏蓝菜 <i>Thlaspi caerulescens</i>	485	54 280.2	5.80	46.26	细胞核 Nucleus	180,162,56	
油菜 <i>Brassica napus</i>	485	54 456.6	6.30	45.89	细胞核 Nucleus	180,162,56	
芥菜 <i>Brassica juncea</i>	485	54 285.3	6.13	43.44	细胞核 Nucleus	180,162,56	
拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	485	54 517.6	6.18	52.48	细胞核 Nucleus	180,162,56	
银合欢 <i>Leucaena leucocephala</i>	485	54 572.7	7.77	54.03	细胞核 Nucleus	180,162,56	
田菁 <i>Sesbania rostrata</i>	465	51 906.0	6.26	48.18	细胞核 Nucleus	144,126,20	
百脉根 <i>Lotus japonicus</i>	503	55 782.3	6.68	41.98	线粒体、细胞核 Mitochondrion, Nucleus	180,162,56	

plant-multi/)^[14] 分析蛋白跨膜结构域、亲水性/疏水性、信号肽和亚细胞定位。利用 NPS (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_hnn.html)分析蛋白质的二级结构,利用 Phyre2 (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/html/page.cgi?id=index>)^[15] 分析蛋白质的三级结构。利用 Pfam 27.0 (<http://pfam.sanger.ac.uk/>)^[16] 预测蛋白的功能域。
















1.2.3 系统进化树的构建 应用多序列比对工具 Clustal X1.83,以氨基酸全序列联配的结果为基础,采用 MEGA 5.1 软件包中的邻接法 (Neighbor-joining, NJ) 构建系统发育树。通过随机逐步比较的方法搜索最佳系统进化树,对生成的系统树进行 Bootstrap 校正^[17]。

2 结果与分析

2.1 核苷酸及氨基酸序列的理化性质分析

用 ProtParam 在线工具分析苹果、湖北海棠、杜梨、拟南芥、烟草和水稻等 22 种植物 PCS 基因的核苷酸及其编码的氨基酸序列,由表 2 可知,氨基酸序列长度在 465~506 aa,分子量在 51 613.0~55 803.5 Da,理论等电点在 5.67~7.77,除金鱼藻 PCS 蛋白为稳定蛋白外,其它植物的 PCS 蛋白均为不稳定蛋白。该蛋白均不存在信号肽,不是分泌性蛋白,也未发现跨膜区,不属于跨膜蛋白。亚细胞定位分析表明,PCS 蛋白主要定位于细胞核中,在叶绿体和线粒体中也有少量分布。亲水性/疏水性分析显示亲水区域明显大于疏水区域,说明 PCS 蛋白亲水性较强,为亲水性蛋白。利用 Pfam 27.0 分析 PCS 蛋白的功能域,结果表明 PCS 蛋白均具有一个植物络合素合酶 (Phytochelatase) 功能域,并具有 3 个预测的活性位点,属于植物络合素合酶蛋白家族。

续表 2

物种 Species	氨基酸数目 Amino acid/aa	分子量 Molecular weight/Da	等电点 pI	组成及性质 Composition and character			活性位点 Active sites	功能域 Functional domains
				不稳定系数 Instability index	亚细胞定位 Subcellular localization			
苹果 <i>Malus domestica</i>	497	54 934.8	7.48	44.29	叶绿体、线粒体 Chloroplast, Mitochondrion		180,162,56	
湖北海棠 <i>Malus hupehensis</i>	497	54 976.4	6.51	42.26	叶绿体、线粒体、细胞核 Chloroplast, Mitochondrion, Nucleus		180,162,56	
杜梨 <i>Pyrus betuli folia</i>	497	55 000.1	6.41	43.72	叶绿体、线粒体、细胞核 Chloroplast, Mitochondrion, Nucleus		180,162,56	
苜蓿菜 <i>Sonchus arvensis</i>	491	54 318.4	5.71	49.77	叶绿体、线粒体、细胞核 Chloroplast, Mitochondrion, Nucleus		180,162,56	
莴苣 <i>Lactuca sativa</i>	490	54 310.5	5.80	48.39	线粒体、细胞核 Mitochondrion, Nucleus		180,162,56	
烟草 <i>Nicotiana tabacum</i>	501	54 973.3	7.50	42.44	叶绿体、线粒体、细胞核 Chloroplast, Mitochondrion, Nucleus		180,162,56	
马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i>	467	51 742.4	6.12	41.15	细胞核 Nucleus		144,126,20	
金鱼藻 <i>Ceratophyllum demersum</i>	501	55 657.9	5.67	35.22	细胞核 Nucleus		180,162,56	
大蒜 <i>Allium sativum</i>	506	55 796.3	7.10	41.29	叶绿体 Chloroplast		180,162,56	
水稻 <i>Oryza sativa</i>	473	51 613.0	6.02	46.82	细胞核 Nucleus		195,177,71	
芦苇 <i>Phragmites australis</i>	498	54 902.6	5.99	48.83	细胞核 Nucleus		180,162,56	
狗牙根 <i>Cynodon dactylon</i>	504	55 803.5	6.85	55.80	细胞核 Nucleus		182,164,58	
荞麦 <i>Fagopyrum esculentum</i>	494	55 449.3	5.92	51.67	细胞核 Nucleus		181,163,57	
盐地碱蓬 <i>Suaeda salsa</i>	492	54 513.6	6.36	42.18	细胞核 Nucleus		181,163,57	
蜈蚣草 <i>Pteris vittata</i>	476	53 298.0	6.12	48.01	细胞核 Nucleus		144,126,20	

2.2 同源性比较和蛋白系统进化树分析

利用 NCBI Blast 程序对苹果 PCS 蛋白的氨基酸序列进行同源性比对,结果表明,苹果 PCS 蛋白的氨基酸序列与湖北海棠的同源性最高,达 97%,与杜梨(AEY68568.1)的同源性高达 94%,与田菁(AAY83876.1)、百脉根(AFK47465.1)、裂叶苜蓿菜(ACU44656.1)、莴苣(AAU93349.1)、烟草(AAO74500.1)、马铃薯(CAD68107.1)、拟南芥(AAD16046.1)、芥菜(BAB85602.1)、油菜(CAK24968.2)、天蓝遏蓝菜(BAB93120.1)、大蒜(AAO13809.1)、银合欢(ACL00594.3)、金鱼藻(ADR10438.1)、芦苇(AFU06381.1)、荞麦(BAF75863.1)、狗牙根(AAO13810.2)、盐地碱蓬(AGC82138.1)、水稻(AAO13349.2)和蜈蚣草(ADR51704.1)的同源性分别为 72%、72%、70%、70%、67%、66%、65%、65%、64%、64%、63%、63%、59%、59%、57%、56%、55%、50% 和

46%。采用 CLC Combined Workbench 6 观察图形化的多重序列比对结果(图 1,部分结果),结果证实了上述同源性比对的结果。

用 Clustal X1.83 和 MEGA 5.1 软件对上述 22 种植物的 PCS 蛋白氨基酸序列构建系统进化树,采用默认参数,自检举 1 000 次,对生成的系统树进行 Bootstrap 校正。由图 2 可知,苹果和湖北海棠在同一个进化分支上,同源性最高,其次为杜梨,这与同源性比较的结果相一致。

2.3 二级和三级结构分析

利用 NPS 对苹果 PCS 蛋白进行二级结构分析,由表 3 可知,苹果 PCS 蛋白是由 α 螺旋、无规则卷曲和延伸链等结构元件组成的,其中 α 螺旋占 44.87%,延伸链占 42.86%,无规则卷曲占 12.27%。对其它植物 PCS 蛋白同样进行二级结构分析,发现均是由 α 螺旋、延伸链和无规则卷曲等结构元件组成的。

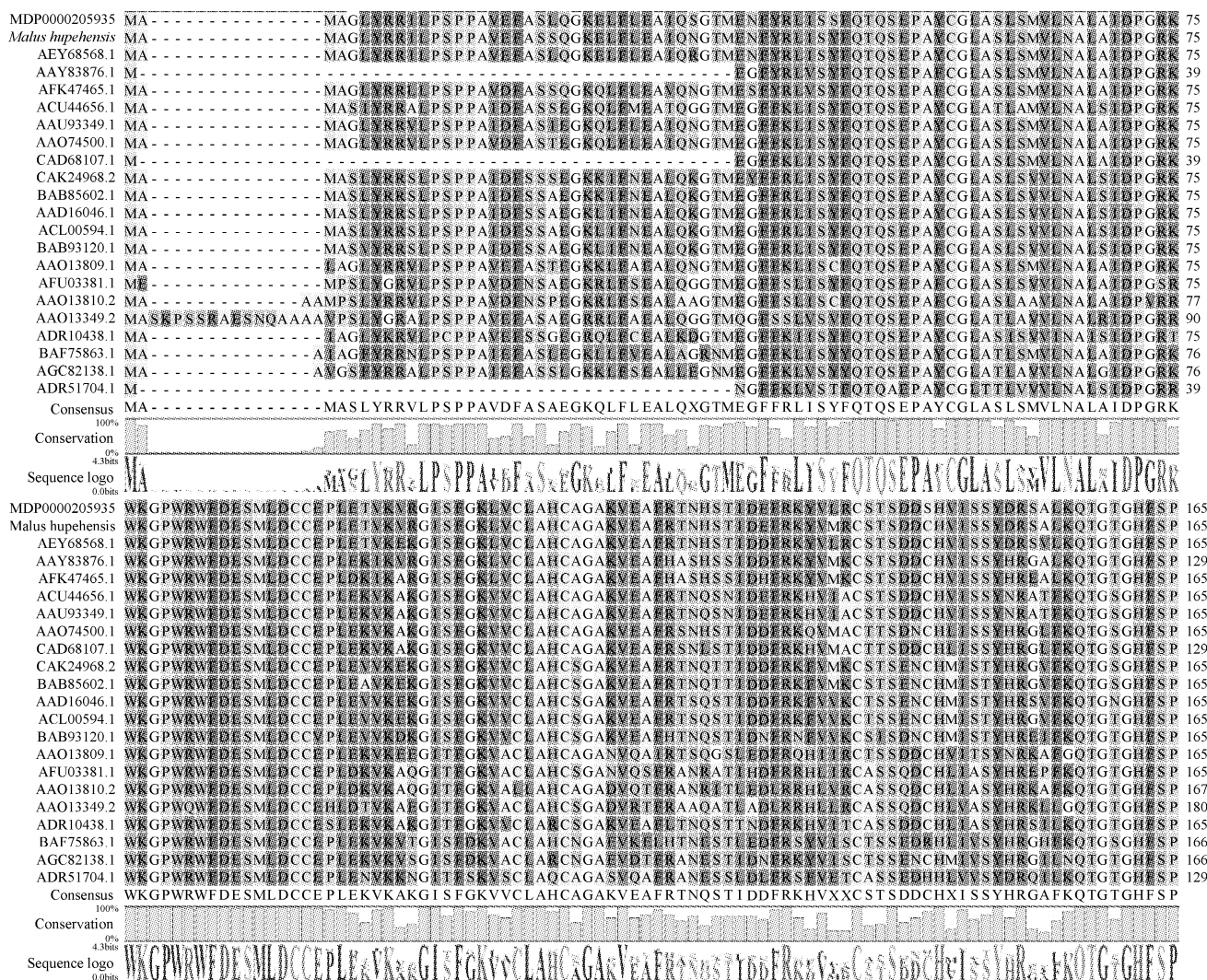


图1 不同植物 PCS 蛋白的氨基酸序列比对分析(部分结果)

Fig. 1 The alignment analysis of different PCS amino acid sequences by CLC Combined Workbench 6 software(Partial results)

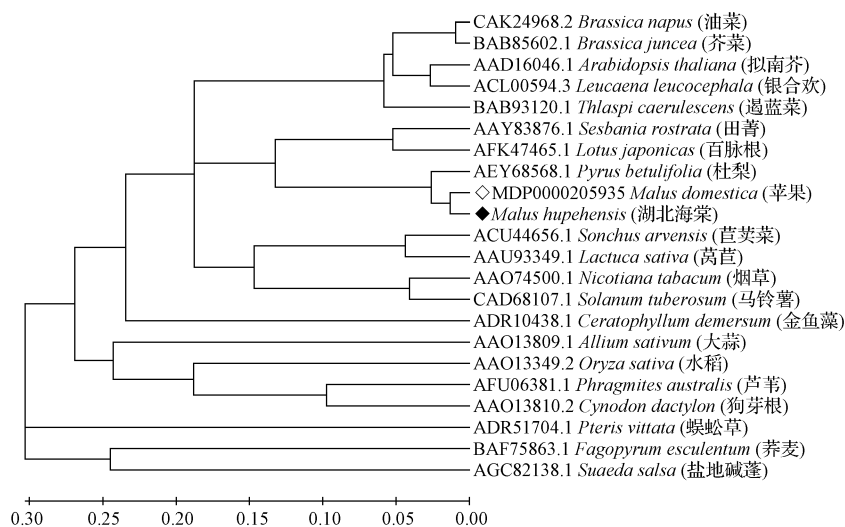


图2 不同植物 PCS 蛋白的系统进化分析

Fig. 2 The phylogenetic analysis of different PCS proteins by MEGA 5.1 software

利用 Phyre2 采用同源建模的方法预测不同植物 PCS 蛋白的三级结构,由图 4 可知,三级结构主要是由 α 螺旋、无规则卷曲和延伸链等二级结构元件组成的,空

间结构高度相似,而且其功能域上均存在 3 个相似的活性位点,表明它们可能具有相似的生物学功能。

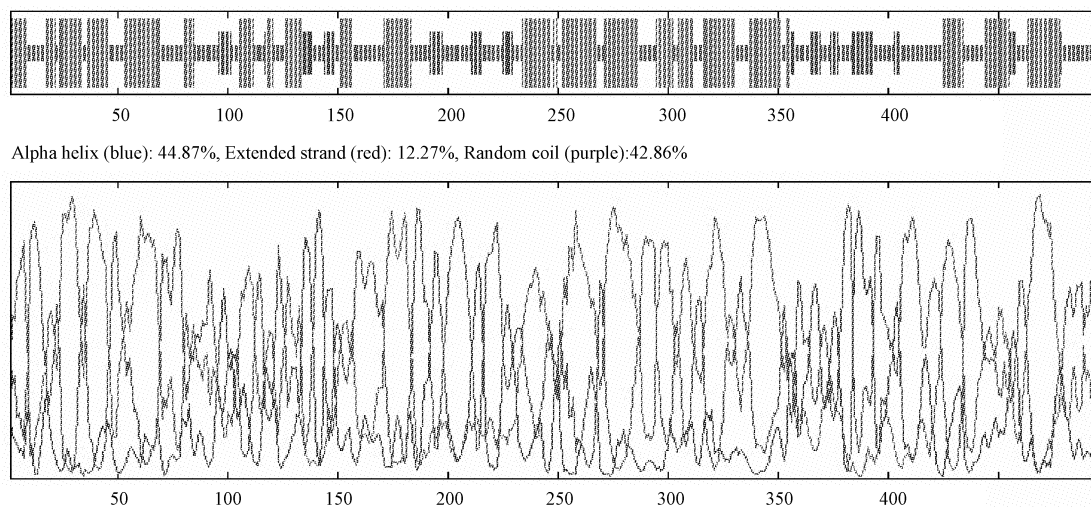


图 3 苹果 PCS 蛋白的二级结构分析

Fig. 3 The secondary structure analysis of PCS protein from *Malus domestica* by NPS program



图 4 不同植物 PCS 蛋白的三级结构分析

Fig. 4 The tertiary structure analysis of PCS proteins from different plants

3 讨论

植物络合素合酶(PCS)是催化谷胱甘肽聚合成植物络合素的关键酶,对于缓解重金属毒害具有重要作用,多年来受到研究者的广泛关注^[18]。了解不同物种 PCS 基因的序列和结构特征,有助于理解不同植物富集重金属离子的水平差异。该研究从生物信息学的角度,以苹果为主要对象,对湖北海棠、杜梨、水稻、拟南芥、烟草、百脉根和盐地碱蓬等不同植物 PCS 基因的核苷酸及氨基酸序列的理化特征、结构特点、功能域和系统进化等进行了分析和预测。

Ha 等^[6]将拟南芥 *AtPCS1* 基因、裂殖酵母 *SpPCS1* 基因和线虫 *CePCS1* 基因进行了比对,发现这 3 个进化分支极远的物种间,PCS 蛋白 N-端区域相似性较高,达到 46%。该研究分析同样发现,PCS 蛋白 N-端区域较为保守,C-端区域变异性较大。许多与重金属吸收、分配和储存功能相关的蛋白均含有多个保守的半胱氨酸残基,或组成一定的结构或元件,PCS 蛋白同样如此。对湖北海棠 PCS 蛋白分析表明,其具有 Cys-56、Cys-90/91、Cys-109 和 Cys-113 双子叶植物 PCS 蛋白的特征位点,C-端可变区包含 14 个 Cys 残基,是 PCS 蛋白主要的金属结合位点,其中包括 3 个相邻的 Cys-Cys 元件(331-332、351-352 和 369-370 位氨基酸)^[11]。该研究发现,不同物种的 PCS 蛋白均含有保守的 Cys 残基及催化位点,这对于 PCS 蛋白的功能活性可能具有重要作用。

已有研究表明,半胱氨酸残基的位置和排列方式对植物 PCS 蛋白的活性和重金属耐受能力非常重要。Cys-56 残基存在于绝大部分植物络合素合酶中,是 Cd²⁺ 酰基化的第 1 个位点,对于植物络合素合成的活性必不可少^[19-20]。该研究结果发现,Cys-56 残基作为预测的活性位点之一,存在于大部分植物 PCS 蛋白中。由于系统进化上的原因,少数植物 Cys-56 残基位点存在轻微变化,比如荞麦(BAF75863.1)、水稻(AAO13349.2)和田菁(AAY83876.1)的活性 Cys 残基分别为 Cys-57、Cys-71 和 Cys-20。研究发现,LjPCS1 蛋白包含 3 个活性必需的氨基酸(Cys-56、His-162 和 Asp-180),它们组成催化三联体来起作用^[21],这与该研究分析百脉根(AFK47465.1)得到的结果一致。另外,其它植物的 PCS 蛋白均含有这 3 个特异氨基酸位点所构成的催化三联体,说明不同物种中 PCS 蛋白的活化及催化方式是保守的。

苹果和梨同属于蔷薇科仁果类果树,在进化上具有较近的亲缘关系。系统进化树分析表明,苹果、湖北海棠和杜梨 PCS 蛋白在同一进化分支上。蛋白酶的空间结构对于酶的功能活性及其催化效率有重要的影响,若空间结构相似,其可能具有相似的生物学功能。三级结构预测显示,植物 PCS 蛋白的空间结构非常相似,均由 α 螺旋、无规则卷曲和延伸链等二级结构元件组成,因此

认为它们可能在生物体内行使类似的生理功能,当然这种结构与功能的关联性还需要进一步工作的验证。该研究的结果将为在苹果上深入研究 PCS 蛋白的结构和功能提供依据和理论基础。

参考文献

- [1] 吴彩斌,雷恒毅,宁平. 环境学概论[M]. 北京:中国环境科学出版社,2011:376-378.
- [2] Ramos J, Naya L, Gay M, et al. Functional characterization of an unusual phytochelatin synthase, LjPCS3, of *Lotus japonicus* [J]. Plant Physiology, 2008, 148:536-545.
- [3] Stephan C. Evolution and function of phytochelatin synthases [J]. Journal of Plant Physiology, 2006, 163:319-332.
- [4] Ralph B, Andreas B, Arthur K, et al. Function of phytochelatin synthase in catabolism of glutathione-conjugates [J]. The Plant Journal, 2007, 49:740-749.
- [5] Ha S, Smith A P, Howden R, et al. Phytochelatin synthase genes from *Arabidopsis* and the yeast *Schizosaccharomyces pombe* [J]. The Plant Cell, 1999(11):1153-1163.
- [6] Vatamaniuk O K, Mari S, Lu Y P, et al. AtPCS1, a phytochelatin synthase from *Arabidopsis*: isolation and *in vitro* reconstitution [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1999, 96:7110-7115.
- [7] Clemens S, Kim E J, Neumann D, et al. Tolerance to toxic metals by a gene family of phytochelatin synthases from plants and yeast [J]. EMBO Journal, 1999(18):3325-3333.
- [8] Heiss S, Wachter A, Bogs J, et al. Phytochelatin synthase (PCS) protein is induced in *Brassica juncea* leaves after prolonged Cd exposure [J]. Journal of Experimental Botany, 2003, 54:1833-1839.
- [9] 姜琰楠,冯保民,张海燕,等. 大蒜植物络合素合酶基因转化对酵母重金属抗性的提高 [J]. 植物生态学报, 2005(29):659-664.
- [10] 柳玉霞,王晓桐,苏旭东,等. 毛白杨植物络合素合酶(*PtPCS*)基因克隆及其表达研究 [J]. 分子植物育种, 2012, 10(2):174-183.
- [11] 姜倩倩,孙晓莉,曹慧,等. 湖北海棠植物络合素合酶 *MhPCS* 基因克隆及表达分析 [J]. 果树学报, 2013, 30(3):341-347.
- [12] Christos A O. Rise and demise of bioinformatics? Promise and progress [J]. PLoS Comput Biol, 2012, 8(4):e1002487.
- [13] Thomas N P, Søren B, Gunnar H, et al. SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions [J]. Nature Methods, 2011(8):785-786.
- [14] Kuo C C, Hong B S. Plant-mPLoc: a top-down strategy to augment the power for predicting plant protein subcellular localization [J]. PLoS ONE, 2010, 5(6):11335.
- [15] Kelley L A, Sternberg M J E. Protein structure prediction on the web: a case study using the Phyre server [J]. Nature Protocols, 2009(4):363-371.
- [16] Punta M, Coghill P C, Eberhardt R Y, et al. The Pfam protein families database [J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40:290-301.
- [17] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods [J]. Molecular Biology and Evolution, 2011(28):2731-2739.
- [18] 冯保民,麻密. 植物络合素及其合酶在重金属抗性中的功能研究进展 [J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(6):657-661.
- [19] Ruotolo R, Peracchi A, Bolchi A, et al. Domain organization of phytochelatin synthase [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2004, 279:14686-14693.

黑莓亲缘关系的 AFLP 分析

张玉平, 姜 明, 鲁绍伟, 潘青华, 李少宁

(北京市农林科学院 林业果树研究所, 北京 100093)

摘 要:以引进的 11 个黑莓栽培品种和 13 株黑莓实生苗为试材, 采用 AFLP 分子标记技术, 从 *EcoRI*/*MseI* 引物组合中筛选出 10 对多态性好、扩增条带清晰的引物对其进行遗传多样性和亲缘关系的研究。结果表明: 黑莓样品共扩增出 657 条带, 多态性条带 488 条, 多态性比率为 74.3%。基于品种间遗传相似性系数的 UPGMA 聚类分析, 在遗传相似性系数 0.52 水平上可将黑莓分为 2 组, 与形态学分类基本一致。表明 AFLP 技术可有效应用于黑莓品种遗传关系的研究, 为品种鉴定、合理引种以及遗传育种提供可靠依据。

关键词:黑莓; 亲缘关系; AFLP

中图分类号:S 663.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)21-0116-04

黑莓 (*Rubus* spp.) 属蔷薇科 (Rosaceae) 悬钩子属 (*Rubus*) 植物, 分属于实心莓亚属 (*Eubatus*), 又称黑莓亚

第一作者简介:张玉平(1972-), 女, 硕士, 副研究员, 现主要从事树莓遗传育种等研究工作。

责任作者:潘青华(1972-), 男, 博士, 研究员, 现主要从事果树遗传育种等研究工作。

基金项目:北京市农林科学院青年基金资助项目(QNJ201002); 农业部公益性行业科研专项资助项目(201103037); 北京市财政资源资助项目(KJCX201101009)。

收稿日期:2013-06-19

属^[1-2], 该亚属共有 400 多种, 占悬钩子全部种类近 60%。根据园艺特征, 悬钩子属分为 2 个主要种群, 即黑莓种群和树莓种群, 黑莓种群果实成熟时不与花托分离, 而树莓果实成熟时与花托分离。黑莓果实个大, 酸甜适口, 除鲜食外还大部分制成速冻果实、果汁、果酒和果酱等食品以及黑莓色素、种籽油、天然维生素 E 等深加工产品。黑莓原产于北美东部和欧洲中部, 栽培历史约 150~200 a。国外已培育出了数百个品种^[3-5]。我国自 20 世纪 90 年代末开始引进, 但是许多品种的表现不如原产地, 而且生产中同物异名和同名异物现象较多, 致

[20] Rea P A. Phytochelatin synthase, papain's cousin, in stereo[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103:507-508.

[21] Ramos J, Clemente M R, Naya L, et al. Phytochelatin synthases of the

model legume *Lotus japonicus*. A small multigene family with differential response to cadmium and alternatively spliced variants[J]. Plant Physiology, 2007, 143:1110-1118.

Analysis of Phytochelatin Synthase Genes' Characteristics in Different Plants

JIANG Qian-qian, CAO Hui

(Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology in Universities of Shandong, Weifang University, Weifang, Shandong 261061)

Abstract: Phytochelatin synthase (PCS) is the key enzyme which catalyzes glutathione (GSH) polymerization to generate phytochelatin (PCs) in plants, and plays an important role in the mitigation of heavy metal stress. The nucleic acid and amino acid sequences, physical and chemical properties, protein structure, phylogenetic trees and functional domains of PCS genes from *Malus domestica*, *Malus hupehensis*, as well as *Pyrus betulifolia*, *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa*, *Nicotiana tabacum*, and *Lotus japonicus* which had been registered in GenBank were analyzed and investigated using bioinformatics online methods and software, such as ProtParam, TMHMM, SignalP, Phyre2, Pfam, Clustal X and MEGA. The results showed that the length of PCS proteins was between 465~506 amino acids, and the isoelectric point was between 5.67~7.77. The PCS proteins were mainly localized in the nucleus. The plant PCS proteins were unstable protein except *Ceratophyllum demersum*. The secondary structure of PCS proteins were mainly composed of α -helix, extended strand and random coil, and their spatial structure had a high degree of similarity. All the PCS proteins belonged to phytochelatin synthases protein families, which containing a phytochelatin functional domain, and three predicted active sites. This study would provide the basis for further investigating the structural characteristics and functions of this enzyme.

Key words: phytochelatin synthase (PCS); physical and chemical properties; phylogeny; sequence and structure analysis