

文章编号: 1000-5471(2007)05-0056-03

# 杂交稻富优 1 号苗期蔗糖/质子同向转运体 基因家族表达谱研究<sup>①</sup>

胥 婷, 董滢珍, 任 蕾, 李关荣

西南大学 农学与生物科技学院, 重庆 400716

**摘要:** 蔗糖/质子同向转运体在植物碳素分配中起着重要的作用. 研究表明水稻中有 5 个蔗糖质子同向转运体基因家族成员. 该研究根据 5 个 OsSUTs 基因家族成员的序列, 分别设计其特异引物, 采用 RT-PCR 技术, 研究了其 5 个成员在杂交稻富优 1 号的幼苗期根和叶中的表达谱. 结果表明, 富优 1 号杂交稻幼苗的根中表达的有 OsSUT2、3 和 4; 叶中 OsSUT 1-5 都有表达.

**关键词:** 杂交稻; 富优 1 号; 蔗糖/质子同向转运体; 基因表达谱

**中图分类号:** S511

**文献标识码:** A

蔗糖是有机物质运输的主要形式, 占筛管汁液干重的 73% 以上. 光合作用产生的蔗糖的 50%~80% 是从叶片(源)经韧皮部运输到植物的可食性部分如果实、种子和块根块茎(库)中的<sup>[1]</sup>. 镶嵌在植物细胞, 包括叶肉细胞、伴胞和筛管分子质膜中的糖泵, 利用 ATP 酶产生的电势逆浓度梯度转运蔗糖, 它同时协同运输一分子蔗糖和一个质子到细胞中去<sup>[2]</sup>, 这个糖泵就是蔗糖转运体(Sucrose Transporter, SUT)或蔗糖/质子同向转运体(Sucrose/H<sup>+</sup> symporter). 由于蔗糖是大多数植物通过韧皮部运输的主要碳水化合物, 蔗糖/H<sup>+</sup>同向转运体被认为在参与植物碳素分配中起着重要的作用. 竞争库器官间蔗糖的分配模式受到发生在受体库器官的细胞转运事件的强烈影响, 而蔗糖的分配模式决定作物产量. 因此, 细胞间蔗糖的转运是控制同化物分配及作物产量的关键控制步骤.

近十多年来, 人们对同化物分配的了解取得了较大的进展. 参与此过程的数种蛋白质已被描述和阐明, 许多研究都集中在 SUT 上. 它是由 12 次跨膜  $\alpha$ -螺旋和 1 个在所有已知植物的 SUTs 中高度保守的结构域组成的, 这些跨膜螺旋又是由很多已经鉴定出来的转运单糖和二糖的转运体组成<sup>[3]</sup>. 编码 SUT 蛋白的基因在许多双子叶和单子叶植物中都被分离. 第一个在单子叶植物中被鉴定出来的 SUT 基因 OsSUT1 来自于水稻<sup>[4]</sup>. 随着水稻基因组测序的完成, 迄今已经在水稻中鉴定出了 5 个 SUT 基因家族成员. Aoki 等<sup>[5]</sup>研究了蔗糖共运体基因家族的 5 个成员在水稻(粳稻)中的时空表达. 但目前尚未见有蔗糖共运体基因家族在杂交稻中表达情况的研究报道.

本文以国审杂交稻种富优 1 号萌发 7 d 后的叶和根为材料, 根据 5 个 OsSUTs 基因家族成员的序列设计特异引物<sup>[6]</sup>, 用 RT-PCR 技术研究了其在富优 1 号幼叶和幼根的表达谱. 并与前人在常规稻(粳稻)研究得到的表达谱相比较, 探讨其在杂交稻和粳稻中的表达差异. 为进一步探索杂交稻高产的同化物分配和运输的分子机制, 最终实现光合同化物分配的人工控制奠定基础. 同时还可从分子水平研究同化物转运和控制谷类作物的结实率、籽粒充实度等重要生产问题.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和试剂

取 2003 年经国审通过的优良杂交稻富优 1 号(由重庆西南农业大学种业公司提供), 经过浸种、28 °C

① 收稿日期: 2006-12-05

基金项目: 重庆市科委自然科学基金资助项目(9264).

作者简介: 胥婷(1982-), 女, 重庆大渡口人, 硕士研究生, 主要从事基因克隆和表达分析研究工作.

通讯作者: 李关荣, 教授, 硕士生导师.

光照水培 7 d 后取的幼叶和根。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 水稻叶和根总 RNA 的提取及其反转录

按照试剂说明书, 用总 RNA 抽提试剂盒 Trizol (Invitrogen) 分别提取幼叶和根的总 RNA. 以 Oligo(dT)18 为引物, 用无 RNase H 的反转录酶 M-MLV 进行反转录获得第一链 cDNA, 以此作为 PCR 扩增的模板。

#### 1.2.2 引物设计与合成

根据 Aoki 等的 RT-PCR 引物设计了用于扩增的 5 个 OsSUTs 成员的 5 对特异引物(表 1)

表 1 OsSUT1-5 的特异引物及其 PCR 产物预期大小

基因	引物对	引物序列 (5'→3')	引物的位置	引物长度/nt	预期大小/bp
OsSUT1	SUT-1RL	AGTTCGTGGTCGGTCAGCAT	1646 1664	19	239
	SUT-1RR	ACCGAGGTGGCAACAAAG	1885 1868	18	
OsSUT2	SUT-2RL	AGGAGGAGAGGTCACCGATAA	1561 1581	21	239
	SUT-2RR	CCAACATCCAATGTACAACAGCA	1800 1778	23	
OsSUT3	SUT-3RL	GCCATGGCGTCCGTGTTC	1507 1524	18	192
	SUT-3RR	GCCTGCTATAGTACCCGCTCT	1699 1679	21	
OsSUT4	SUT-4RL	TTTGCTGAGCAGAACACCA	1819 1838	20	248
	SUT-4RR	ATGTCATTCGGGCAGAGCTT	2067 2048	19	
OsSUT5	SUT-5RL	CTAGTGCGAAACTCCATCAAA	1616 1636	21	249
	SUT-5RR	AAAATATTTGGGTTTCCTGAGAT	1865 1843	23	

#### 1.2.3 RT-PCR

以合成的 cDNA 0.5 μL 为模板, 加入 10×PCR Buffer (Mg<sup>2+</sup> free) 2.5 μL, Mg<sup>2+</sup> 1.5 μL, 正向和反向引物各 0.5 μL (10 μmol · L<sup>-1</sup>), 10 mmol · L<sup>-1</sup> dNTP 0.5 μL, Taq DNA 聚合酶 0.13 μL (5 U/μl<sup>-1</sup>), 加水至 25 μL, 混匀, 离心. 放入 PCR 仪扩增. 反应条件为 94 °C 变性 3 min; 94 °C 变性 1 min, 54 °C ~ 60 °C 退火 (OsSUT1, 56 °C; OsSUT2, 58 °C; OsSUT3, 60 °C; OsSUT4, 55 °C; OsSUT5, 54 °C) 1 min, 72 °C 延伸 30 sec, 35 个循环; 72 °C 10 min. PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

## 2 结果与分析

### 2.1 RNA 的抽提与反转录

用 Trizol 试剂提取的总 RNA, 叶 A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> = 1.83; 根 A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> = 1.81. 电泳检测表现出清晰锐利的 18 S, 28 S, 5 S 谱带(图 1), 质量较高, 达到反转录的要求。

用 M-MLV (RNase H<sup>-</sup>) RTase 反转录此 RNA, RNA 模板用 0.5 μg, 电泳检测点样 1.5 μL. 反转录效率较好(图 1)。

采用 RT-PCR 技术对杂交稻富优 1 号的 5 个 SUT 基因家族成员的表达谱分别进行分析. 结果显示(图 2), OsSUT1 和 OsSUT5 在叶中有表达, 在根部没有表达; OsSUT2, 3 和 4 在叶和根中都有表达。

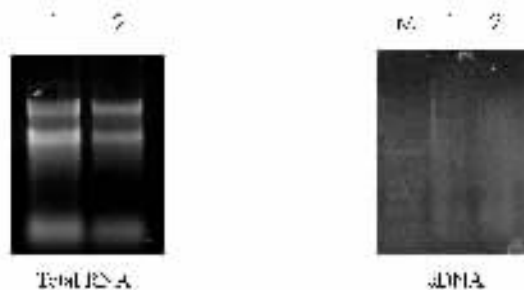


图 1 富优 1 号杂交稻幼苗叶(1) 和根(2)总 RNA 及其 cDNA 的琼脂糖凝胶电泳图(M: 分子量标准)

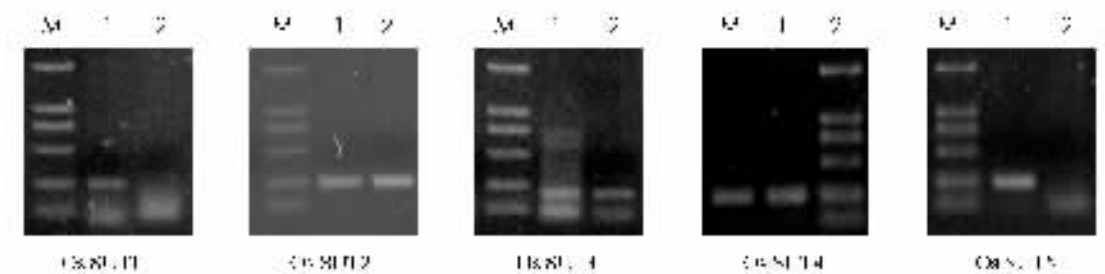


图 2 杂交稻 5 个 OsSUTs 基因在叶(1) 和根(2)中的 RT-PCR 扩增产物电泳图谱(M: 分子量标准)

### 3 讨 论

本研究发现,在富优 1 号杂交稻幼苗的根和叶(库叶)中都有表达的有 OsSUT2, 3 和 4; 在叶中 OsSUT 1—5 都有表达; 在根中 OsSUT1 和 OsSUT5 都没有表达. 这与 Aoki 等利用 Northern 杂交研究的粳稻的根和库叶中的表达情况大体一致<sup>[3]</sup>. 但 OsSUT5 在粳稻的根中有表达(Aoki), 而本研究中在富优 1 号杂交稻的根中却未有表达, 其可能的生理意义有待于扩大杂交稻组合进一步研究.

目前我们正在进行富优 1 号杂交稻整个生活史中蔗糖/质子同向转运体基因家族的时空(萌发的种子、根、叶片库、叶片源、叶鞘库、叶鞘源、穗以及开花后不同天数的颖果等)表达差异研究. 同时比较杂交稻不同组合 F1 代蔗糖/质子同向转运体基因家族成员的表达模式, 以及杂交稻的不育系、保持系和恢复系与杂交 F1 代生长发育过程中这 5 个基因家族成员的表达情况, 以期找到不育系、保持系和恢复系及杂交 F1 代之间、杂交稻组合之间以及杂交稻与常规稻之间的蔗糖/质子同向转运体基因家族成员的表达差异, 揭示正常生长条件或逆境条件(如高温伏旱)下控制水稻的结实率及籽粒充实度的同化物转运的分子原因. 结合其它单子叶或双子叶植物 SUT 基因研究, 最终深入了解光合同化物的详尽的转运、调控分子机制, 进一步了解其分类和进化. 这在目前粳稻基因组序列信息不完善、杂交稻基因组计划尚未完成的情况下, 对研究同化物的分配与运输的分子原因的将具有重要的意义.

#### 参考文献:

- [1] Matthew W. Sucrose-mediated transcriptional regulation of sucrose symporter activity in the phloem [J]. *Plant Biology*, 2002, 99: 10876—10880.
- [2] 曹仪植, 杨素轴. 植物原生质膜的糖转运蛋白 [J]. *植物生理学通讯*, 2000, 36(2): 153—157.
- [3] Ward J M, Kuhn C, Tegeder M, et al. Sucrose transport in higher plants [J]. *Int Rev Cytol*, 1998, 178: 41—71.
- [4] Hirose T, Imaizumi N, Scofield G N, et al. cDNA cloning and tissue-specific expression of a gene for sucrose transporter from rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Physiol* [J]. 1997, 38: 1389—1396.
- [5] Aoki N, Hirose T, Graham N, et al. The Sucrose Transporter Gene Family in Rice [J]. *Plant Cell Physiol*, 2003, 44(3): 223—232.
- [6] 张新宇, 高燕宁. PCR 引物设计及软件使用技巧 [J]. *生物信息学*, 2004, 2(4): 15—18, 46.

## Expression Pattern of Sucrose Symporter Genes During Seedling Stage of Hybrid Rice Fuyou No. 1

XU Ting, DONG Yan-zheng, REN Qiang, LI Guan-rong

*School of Agronomy and Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400716, China*

**Abstract:** Sucrose/proton symporter plays an important role in the partitioning of carbon assimilation. So far all together five members of this gene family have been identified in rice. The expression of the five genes in hybrid rice Fuyou No. 1 seedlings (roots and leaves) has been studied by RT-PCR in this research, using specific primers designed from their corresponding cDNA sequences. Results show that OsSUT2, 3 and 4 are all expressed in roots; and all the five members of the gene family are expressed in the leaves (sink).

**Key words:** hybrid rice; Fuyou No. 1; sucrose/proton symporter; gene expression pattern