

石蒜 Mg^{2+} 转运体基因 *LrMGT* 的克隆与分析

汪 仁, 蔡黎丽, 徐 晟, 李晓丹, 夏 冰^①

[江苏省·中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014]

摘要: 从石蒜(*Lycoris radiata* (L' Hér.) Herb.) 叶片全长 cDNA 文库中克隆获得 Mg^{2+} 转运体(MGT) 基因 *LrMGT*。序列分析结果显示:*LrMGT* 基因的 cDNA 序列全长 1 726 bp, 其中开放阅读框(ORF) 长度 921 bp, 编码 306 个氨基酸。石蒜 *LrMGT* 基因编码的氨基酸序列的理论相对分子质量为 33 635, 理论等电点为 pI 5. 14, 为疏水性膜蛋白, 不具有信号肽。序列比对结果表明: 石蒜 *LrMGT* 基因编码的氨基酸序列与小米[*Setaria italica* (Linn.) Beauv.]、水稻(*Oryza sativa* Linn.) 和拟南芥[*Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.] 等植物的 *MGT* 基因编码的氨基酸序列的相似性较高, 相似度达到 72% ~ 76%; 石蒜 *LrMGT* 基因与其他植物 *MGT* 基因编码的氨基酸序列的保守区域较大, 均具有较高的保守性。在 NJ 系统树上石蒜 *LrMGT* 基因编码的氨基酸序列与禾本科(Gramineae) 植物二穗短柄草[*Brachypodium distachyum* (Linn.) Beauv.]、水稻、高粱[*Sorghum bicolor* (Linn.) Moench] 和小米 *MGT* 基因编码的氨基酸序列聚为同一个分支, 表明它们可能具有较近的进化关系。实时荧光定量 PCR 结果表明: 石蒜 *LrMGT* 基因在根和鳞茎中的相对表达量较高, 在叶片和花中的相对表达量较低, 具有明显的组织特异性。

关键词: 石蒜; Mg^{2+} 转运体; 基因克隆; 序列分析; 同源性; 表达特性

中图分类号: Q785; Q943. 2 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2014)04-0001-07

DOI: 10. 3969/j. issn. 1674-7895. 2014. 04. 01

Cloning and analysis on Mg^{2+} transporter gene *LrMGT* from *Lycoris radiata* WANG Ren, CAI Lili, XU Sheng, LI Xiaodan, XIA Bing^① (Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2014, 23(4): 1-7

Abstract: Mg^{2+} transporter (MGT) gene *LrMGT* was cloned from the full-length cDNA library in leaf of *Lycoris radiata* (L' Hér.) Herb. Result of sequence analysis shows that the full-length of cDNA sequence of *LrMGT* gene is 1 726 bp with an open reading frame (ORF) of 921 bp, which encodes 306 amino acids. The theoretical relative molecular weight of the amino acid sequence encoded by *LrMGT* gene from *L. radiata* is 33 635 and its theoretical isoelectric point is pI 5. 14, and which is hydrophobic membrane protein without signal peptide. The result of sequence alignment shows that amino acid sequence encoded by *LrMGT* gene from *L. radiata* possesses higher similarity to those encoded by *MGT* gene from *Setaria italica* (Linn.) Beauv., *Oryza sativa* Linn. and *Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh., etc, with similarity degree of 72% - 76%. There is large conserved region in all of the amino acid sequences encoded by *LrMGT* gene from *L. radiata* and *MGT* gene from other species, which possess high conservation. In NJ phylogenetic tree, the amino acid sequences encoded by *LrMGT* gene from *L. radiata* and by *MGT* gene from other species in Gramineae such as *Brachypodium distachyum* (Linn.) Beauv., *O. sativa*, *Sorghum bicolor* (Linn.) Moench and *S. italica* are clustered together, meaning that these species have the closer evolution relationship. The real-time fluorescence quantitative PCR result shows that the relative expression of *LrMGT* gene from *L. radiata* is higher in root and bulb and lower in leaf and flower with an obvious tissue specificity.

Key words: *Lycoris radiata* (L' Hér.) Herb.; Mg^{2+} transporter; gene cloning; sequence analysis; homology; expression characteristics

收稿日期: 2014-05-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31301798); 江苏省盐土生物资源研究重点实验室开放课题(JKLBS2012010)

作者简介: 汪 仁(1975—), 男, 安徽宿松人, 博士, 副研究员, 主要从事植物栽培生理等方面的研究。

^① 通信作者 E-mail: xiabingnb@sina. com

Mg^{2+} 是高等植物细胞中最丰富的二价阳离子,也是植物生长发育必需的核心营养元素之一,参与各种生理生化反应,例如, Mg^{2+} 是叶绿素的组成成分,可促进光合作用的碳同化^[1];参与维持类囊体膜两侧的电荷平衡^[2];调节叶绿体不同光系统之间激发能的分配;维持叶绿体结构的稳定等^[3]。此外, Mg^{2+} 不仅可以作为ATP的辅助因子,还是细胞内许多酶(包括RNA聚合酶、磷酸化酶、激酶及羧化酶等)的活化剂,调节酶活性; Mg^{2+} 还参与跨膜电子梯度的建立,以维持细胞内的渗透势、稳定细胞膜^[4]。近年来的研究结果还显示: Mg^{2+} 可调控叶绿体mRNA的稳定性^[5],并在植物抗病^[6]和抗金属Al胁迫中起作用^[7-8]。

为了适应土壤中 Mg^{2+} 含量的变化以及应付其他形式的胁迫,植物体必须严格控制 Mg^{2+} 的转运。在生物界中已知结构类型并各具特点的 Mg^{2+} 转运体(MGT)家族主要包括5大类: Mg^{2+}/H^{+} 交换体、钴抗性蛋白家族(CorA, Cobalt resistance A)、P型磷酸酶(P-type phosphatase)、离子通道和 Mg^{2+} 转运体基因家族(MgtE, magnesium transport E)^[9]。高等植物中已鉴定出 Mg^{2+}/H^{+} 交换体和CorA-like镁离子转运蛋白两类具有 Mg^{2+} 转运活性的转运蛋白^[10-12]。

石蒜(*Lycoris radiata* (L' Hér.) Herb.)是重要的观赏和药用植物,其鳞茎中含有多种生物碱,包括石蒜碱、石蒜胺碱、石蒜伦碱、伪石蒜碱和加兰他敏等,其中,加兰他敏具有强效的可逆乙酰胆碱酯酶(AChE, acetylcholinesterase)抑制活性和神经元烟碱受体构象调节作用,临床上用于治疗阿尔茨海默氏病和小儿麻痹症等^[13]。近年来,对石蒜属(*Lycoris* Herb.)植物功能基因的研究取得了一定进展,已对多个功能基因进行了克隆、测序及表达特征的分析验证^[14-20]。在前期工作的基础上,作者从石蒜全长cDNA文库中克隆获得1个 Mg^{2+} 转运体基因,并利用生物信息学对该基因的核苷酸序列及其编码的氨基酸序列进行分析,以期对石蒜功能基因研究提供更全面的实验依据,并为更加全面了解石蒜MGT基因(*LrMGT*)的生物学功能奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

供试的石蒜新鲜叶片采自江苏省·中国科学院植物研究所苗圃,石蒜叶片全长cDNA文库为本实验

室保存^[21]。

植物总RNA提取试剂Trizol reagent购自美国Invitrogen公司;Taq DNA聚合酶、10×PCR buffer(Mg^{2+} free)、 $MgCl_2$ 、dNTPs mixture、DL2000 DNA marker、pMD18-T载体、T4 DNA连接酶和SYBR Premix Ex Taq试剂盒等购自宝生物工程(大连)有限公司;DNA纯化回收试剂盒购于上海华舜生物工程有限公司;大肠杆菌菌株DH5 α 为本实验室保存;其他常规试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 *LrMGT*基因的克隆和测序 参考GenBank已公布的水稻(*Oryza sativa* Linn.)*OsMGT*(登录号NM_001051488)、大豆[*Glycine max* (Linn.) Merr.]*GmMGT*(登录号XM_003526843)、*Solanum lycopersicum* Linn. *SlMGT*(登录号XM_004250314)、葡萄(*Vitis vinifera* Linn.)*VvMGT*(登录号XM_002272566)、二穗短柄草[*Brachypodium distachyum* (Linn.) Beauv.]*BdMGT*(登录号XM_003564692)、野草莓(*Fragaria vesca* Linn.)*FvMGT*(登录号XM_004288586)、小米[*Setaria italica* (Linn.) Beauv.]*SiMGT*(登录号XM_004970679)以及拟南芥[*Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.]*AtMGT*(登录号XM_004970679)的保守序列设计引物。根据核苷酸序列比对结果获得1对PCR引物PMGT,上游引物序列为5'-AGCTTCATCATCAAGAAGAAGGG-3'、下游引物序列为5'-CCAGACCAATCCTTGAACAT TAT-3'。

取保存于-75℃超低温冰箱中的石蒜叶片全长cDNA文库20 μ L,用灭菌LB液体培养基将菌液稀释10倍,均匀涂布在含有30 μ g $\cdot$ mL⁻¹氯霉素的LB固体培养基上,于恒温(37℃)条件下倒置培养过夜(或培养16h)。随机挑取分散均匀的单菌落,利用引物PMGT进行菌落PCR检测。选取阳性克隆交由上海英骏生物技术有限公司进行测序;结合序列比对,获得该克隆的全长cDNA序列。

1.2.2 *LrMGT*基因的核苷酸序列及其编码的氨基酸序列分析 检测并去除所测序列两端的载体序列(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/vecscreen/>),利用NCBI-ORF Finder软件(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gorf/>)分析出目标序列的开放阅读框(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/>)。

采用ProtParam(<http://www.expasy.org/tools/protparam.html>)分析蛋白质的氨基酸组成;利用

GenBank 数据库的 BLASTp 及 DNAMAN 软件进行氨基酸序列比对,相关植物种类的 MGT 氨基酸序列均来自 NCBI 数据库;利用 DNAMAN 软件进行疏水性/亲水性鉴定;利用 SignalP 软件分析 N 末端信号肽序列 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP-4.0/>);利用 TMHMM 软件进行 *LrMGT* 蛋白跨膜结构预测 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>);利用 SOPMA (http://npsa-pbil.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html) 预测氨基酸序列的二级结构;使用 MEGA5.0 软件中的邻接法 (NJ, neighbor-joining) 构建系统进化树。

1.2.3 *LrMGT* 基因的组织表达特性分析 参照高纯度总 RNA 提取试剂盒的操作说明,分别从石蒜成熟植株的根、鳞茎、叶片和花等组织中提取总 RNA,并根据 DNA 消化酶说明书中的方法对总 RNA 中的 DNA 进行消化。取 1 μ g 已消化的总 RNA,按照反转录说明书的操作步骤、利用 Oligo (dT)₁₈ 和反转录酶 M-MLV (RNase H⁻) 合成 cDNA 第 1 链。根据克隆获得的 *LrMGT* 基因序列设计特异引物,上游引物序列为 5'-TATAGAAATAGATGAGCGTGTC-3'、下游引物序列为 5'-CTTGAAGATGAAGCTGGATC-3';以石蒜

Actin 为内参设计表达检测引物,上游引物序列为 5'-CATCCCTCAGCACCTTCCAG-3'、下游引物序列为 5'-CTGGGATGCAAAAACCGCC-3'。采用 SYBR *Premix Ex Taq* 试剂盒进行实时荧光定量 PCR 反应;相对定量使用参照基因的 ΔC_t 法,表达差异采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示^[22]。

2 结果和分析

2.1 石蒜 *LrMGT* 基因全长 cDNA 序列克隆及分析

根据本实验室构建的石蒜叶片的全长 cDNA 文库,利用特异引物从中分离出 *LrMGT* 基因。通过对阳性克隆测序并去除载体序列,获得了石蒜 Mg^{2+} 转运体基因 *LrMGT* 的序列。该序列已提交 GenBank 数据库,登录号为 KJ651960。

LrMGT 基因的序列分析结果表明:石蒜 *LrMGT* 基因 cDNA 序列全长 1 726 bp,包括 1 个长度为 921 bp 的开放阅读框 (ORF, open reading frame),编码 306 个氨基酸 (图 1)。ProtParam 分析结果表明:*LrMGT* 基因编码的氨基酸序列的理论相对分子质量为 33 635,理论等电点为 pI 5.14。

```

1                                     GGAATGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAG
50 AATAAATATAGAAATAGATGAGCGTCTCTTGGCCGTCGATGAATTCGGGCTCAGCGAAGCGCGATCGGCGTTCAAGGATAACCT
140 GAAGGGGTTTCATTCTCGCCGTCGCTCCAGCGCTTCATCGGATCCAGCTTCATCTTCAAGAAGAGGGCGCTCAAGCGTCCCGCTCCTC
230 TGGCGAATGTCGGGAGCGGAGGGTATGGGTACCTATTGGAGCGGCTATGGTGGGTGGAATGATCAAGTGAAGTTTAAAAAAGCAA
320 ATGTATCTTGATGAAGTTTCGAGGATAAAAAATTTGTTTTTTTATATGGGATTTTTGTAGTGAATTCGTTGGGAAATAGCGAATTTT
M Y L D E V S R I K I C F F F I W G F F V V I V G E I A N F
410 GTGGCATATATATTTCCCGCGGTTCTTGTAAAGCGGCTTGGGCTTTGAGCATCATTGTCACTGCTTTTTGGCGCATTTTATACTG
V A Y I F A P A V L V T P L G A L S I I V S A F L A H F I L
500 AGAGAGAACTCAGAGAATGGGAGTCTTAGGGTGTGCTCTGCATTGTGGGGTCCACTGTAATGTGCTTCATGCTCCGGAGAGCGG
R E K L Q R M G V L G C V L C I V G S T V I V L H A P E E R
590 TCTCAAGCTCGGTGGAACAGATTTGGGAGTTGGCAATCCAACCTGCTTCTTCTTGTATATGACGCGGCGAGTTGTGGTATCTTGTGA
S P S S V E Q I W E L A I Q P A F L L Y M T A A V V V S L V
680 CTGATGCTGCAATGCTCTCTCGGTATGGGAATACGAACATGATGCTGCTACTTGGGAATTTGTTCTTTAATTGGTTCTTTGACGTTATG
L M L H C S P R Y G N T N M M V Y L G I C S L I G S L T V M
770 AGCATAAAGCCATAGGAATGGCATTAACTTACTATAGAGGCGATCAACCAGGCTGTTATATTCAAACGTTGGGTTTGGCAGCGGT
S I K A I G I A I K L T I E G I N Q A G Y I Q T W V F A T T V
860 GCTATCTCTGTATCATTACTCAGTTGATTTACTTGGCAAGGCAATGGATACCTTCAACACAGCTGTAGTATCTCCCATCTTATTATGCC
A I S C I I T Q L I Y L D K A L D T F N T A V V S P I Y Y A
950 ATGTTCACTACTCTGACAATTTAGCGAGTGCCTAATGTTCAAGGATTTGGTCTGGACAAAGTGCAAGTAATATAGCATCCGAGATGTGT
M F T T L T I L A S A I M F K D W S G Q S A S N I A S E M C
1 040 GGATTCATTACAATTTCTTCTGGAATCTGCTATTACATCAACAAGAGACCTGATCCACCTTCAAATATCGATTATTCGCCGCTCTCT
G F I T I L S G T T V L H S T R E P D P P S N I D Y S P L S
1 130 CCTAAGATATTTCTGGTGCATCCAGGCAATGAGATATAGAAAAGCAGCAAGACGAGATCTGTTATCTCTGATTGTCAGTGTGTA
P K I F W C I H G N G D I E K H K D D D L L S P D F V T V V
1 220 CAACAAGATTACTTCACTTACCAACCTGGCTTACATCATGAGACGAGCTCATTTGTAATCACGTGAGAACCAACCCCGTTTACGGG
Q Q D Y F T *
1 310 GGGGAGAGGTTCTCTCAATCCTCCAATGCCTGTTCTGATATCAAGCCTCTATACAAATATTTTGGAGTATATGCACAAGCTATACCTT
1 400 CATTCGCTCAGCATGAATGTAATTTTACTCTCTTTTGTGATTTTTGGGTCGCGATTCTGTTAGTAACAGCATTATTTAATTCA
1 490 TGATCGATATGATCTTTACTAGGATCCAGGGCACTGGCTTTTGTATTTGTAATTACTTGGGTTGTAGGCTTTTGGCGCAACCTGG
1 580 TCCTATGTAATGATTGGAATTTTGTCTTACTGTCATAATCGCAACATATGAATGTGCCACAAGGATTCTATAGTTTTCATTACAGG
1 670 GAAGCTTGAAGAGTTGTTATTTTAATTAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

```

*: 终止密码子 Stop codon.

图1 石蒜 *LrMGT* 基因 cDNA 序列及其编码的氨基酸序列

Fig. 1 cDNA sequence of *LrMGT* gene from *Lycoris radiata* (L' Hér.) Herb. and its encoded amino acid sequence

2.2 石蒜 *LrMGT* 基因及其他植物 *MGT* 基因编码的氨基酸序列比较及同源性分析

BLASTp 分析结果显示:石蒜 *LrMGT* 基因编码的氨基酸序列属于 EmrE 超基因家族,与小米、水稻、二穗短柄草、高粱[*Sorghum bicolor* (Linn.) Moench]、葡萄、野草莓、*Solanum lycopersicum*、鹰嘴豆 (*Cicer arietinum* Linn.)、大豆和拟南芥的 *MGT* 基因编码的氨基酸序列相似性较高,相似度达到 72% ~ 76%。

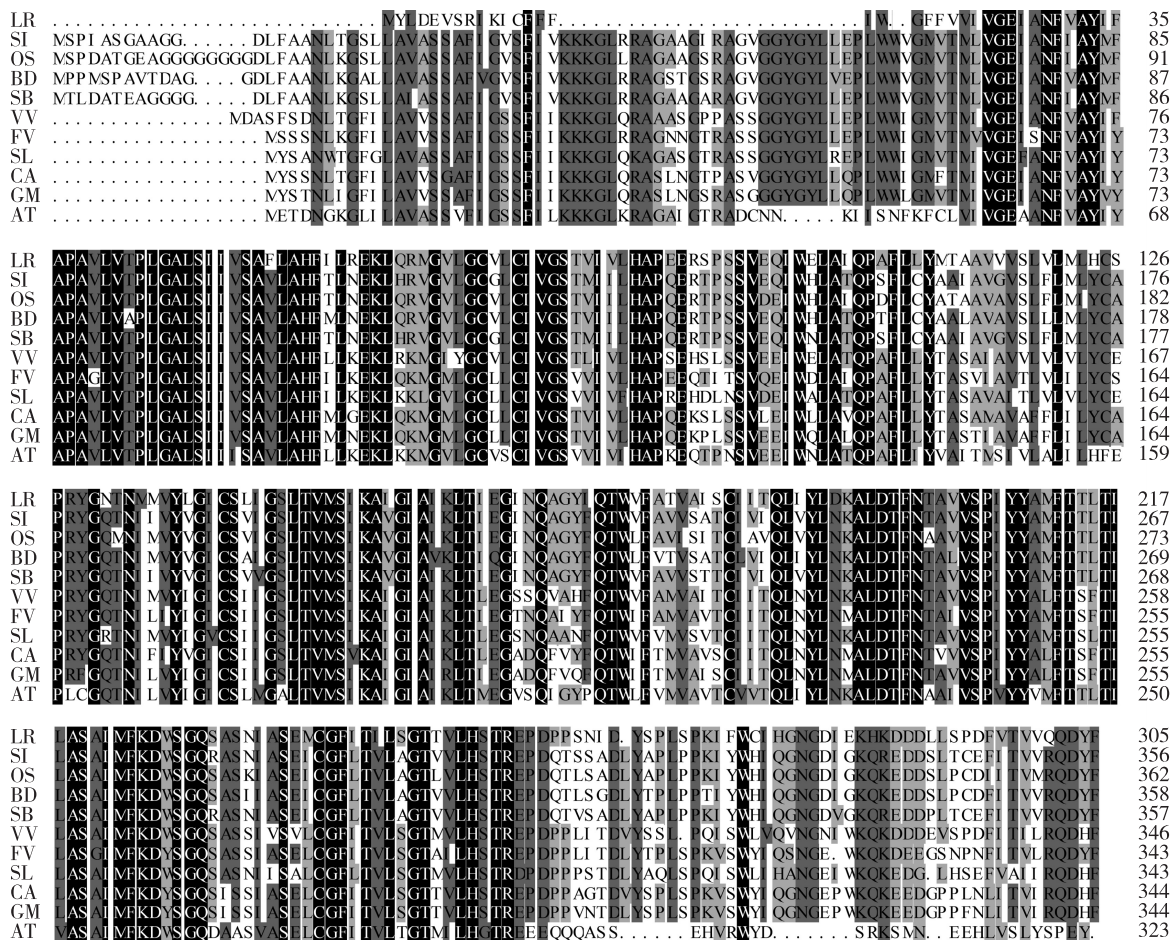
将石蒜 *LrMGT* 基因编码的氨基酸序列与其他植物 *MGT* 基因编码的氨基酸序列进行多重比对(图2),结果显示:石蒜 *LrMGT* 基因及其他植物 *MGT* 基因编码的氨基酸序列的保守区域均较大,且连续的相同氨

基酸数目较多,表明 *MGT* 基因编码的氨基酸序列具有高度的保守性。

为进一步分析从石蒜中分离的 *LrMGT* 基因编码的氨基酸序列与其他植物 *MGT* 基因编码的氨基酸序列的亲缘关系,构建了 NJ 系统树(图3)。结果表明:石蒜 *LrMGT* 基因编码的氨基酸序列与同属于禾本科 (Gramineae) 的二穗短柄草、水稻、高粱和小米的 *MGT* 基因编码的氨基酸序列亲缘关系较近,聚在同一个分支上。

2.3 石蒜 *LrMGT* 基因编码的 *LrMGT* 蛋白的生物信息学分析

使用 ProtParam 对石蒜 *LrMGT* 基因编码的 *LrMGT*



LR: 石蒜 *Lycoris radiata* (L' Hér.) Herb.; SI: 小米 *Setaria italica* (Linn.) Beauv.; OS: 水稻 *Oryza sativa* Linn.; BD: 二穗短柄草 *Brachypodium distachyum* (Linn.) Beauv.; SB: 高粱 *Sorghum bicolor* (Linn.) Moench; VV: 葡萄 *Vitis vinifera* Linn.; FV: 野草莓 *Fragaria vesca* Linn.; SL: *Solanum lycopersicum* Linn.; CA: 鹰嘴豆 *Cicer arietinum* Linn.; GM: 大豆 *Glycine max* (Linn.) Merr.; AT: 拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.

图2 石蒜 *LrMGT* 基因与其他植物 *MGT* 基因编码的氨基酸序列的多重比对结果
Fig. 2 Result of multiple alignment of amino acid sequences encoded by *LrMGT* gene from *Lycoris radiata* (L' Hér.) Herb. and *MGT* gene from other species

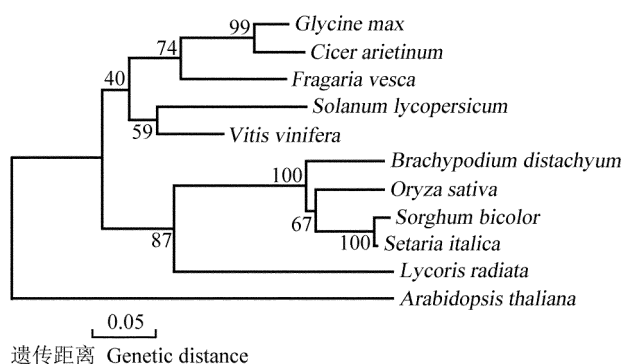


图3 石蒜 *LrMGT* 基因与其他植物 *MGT* 基因编码的氨基酸序列的 NJ 系统树

Fig. 3 NJ phylogenetic tree of amino acid sequences encoded by *LrMGT* gene from *Lycoris radiata* (L' Hér.) Herb. and *MGT* gene from other species

蛋白的一级结构及理化性质进行预测,结果显示:石蒜 *LrMGT* 蛋白的分子式为 $C_{1558}H_{2427}N_{367}O_{426}S_{18}$,半衰期(half-life)为 30 h,不稳定指数(instability index)为 35.29,脂肪族氨基酸指数(aliphatic index)为 118.50。

利用 DANMAN 软件对石蒜 *LrMGT* 基因编码的 *LrMGT* 蛋白进行疏水性/亲水性分析(图4),结果表明:该蛋白质的第 21 位缬氨酸(Val)疏水性最强,第 74 位亮氨酸(Leu)和第 13 位苯丙氨酸(Phe)的疏水性次之;第 286 位组氨酸(His)和第 287 位赖氨酸(Lys)的亲水性最强。总体上看,石蒜 *LrMGT* 蛋白属于疏水性蛋白。

二级结构预测结果显示: α 螺旋、延伸链和无规则卷曲是 *LrMGT* 蛋白中较多的结构元件,还含有少

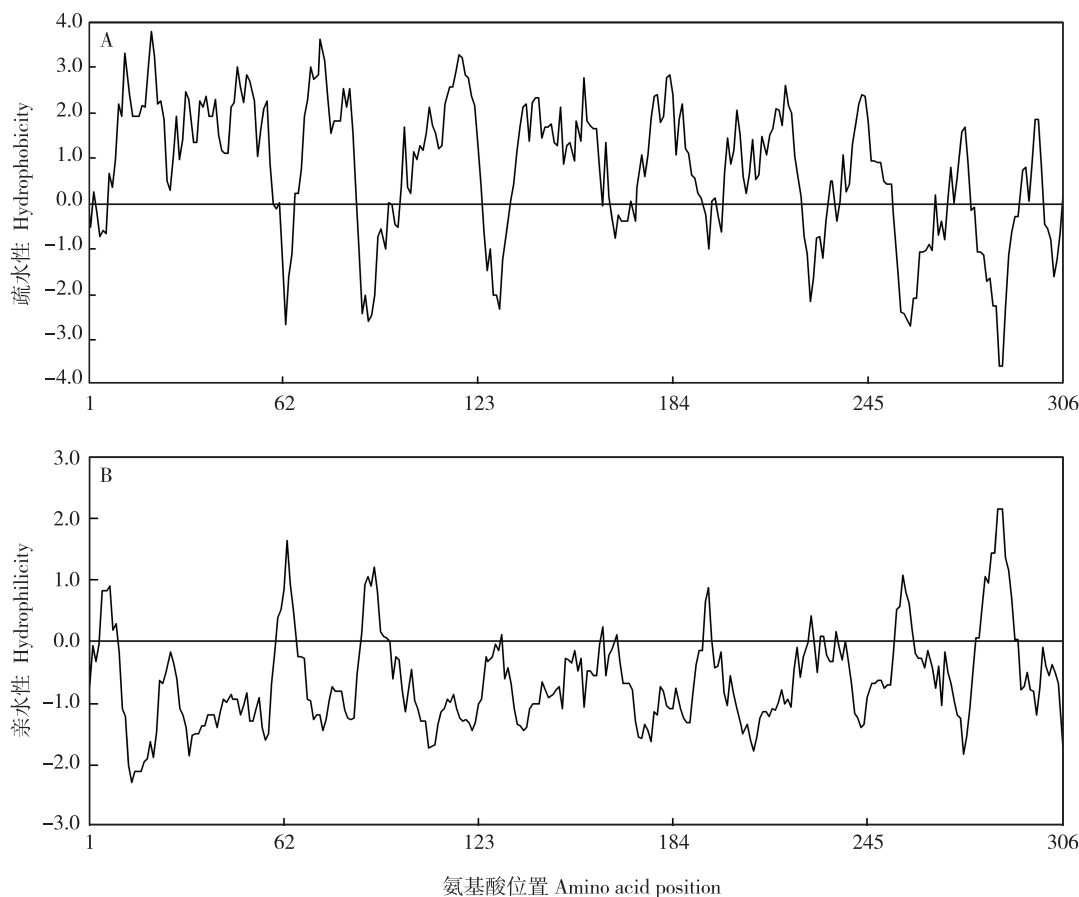


图4 石蒜 *LrMGT* 基因编码的 *LrMGT* 蛋白的疏水性(A)和亲水性(B)

Fig. 4 Hydrophobicity (A) and hydrophilicity (B) of *LrMGT* protein encoded by *LrMGT* gene from *Lycoris radiata* (L' Hér.) Herb.

量的 β 转角。统计结果表明:*LrMGT* 蛋白的二级结构包含 43.79%的 α 螺旋、26.80%的延伸链、21.57%的无规则卷曲和 7.84%的 β 转角。而跨膜结构预测结

果(图5)表明:*LrMGT* 蛋白拥有 7 个跨膜区,分别是 12~34、38~60、67~86、101~123、136~158、173~192 和 199~221,无信号肽。

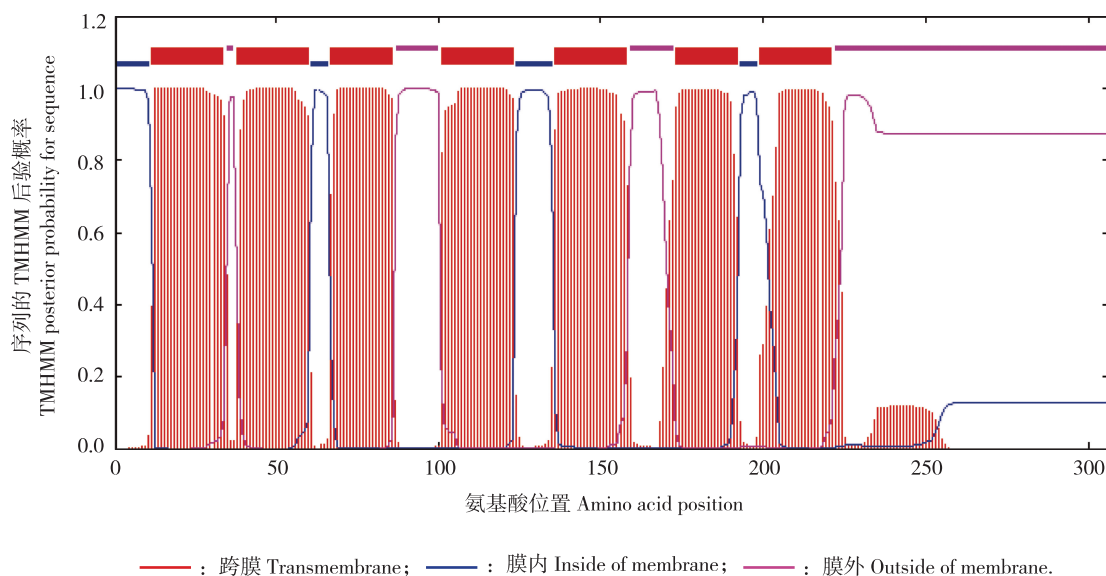


图5 石蒜 *LrMGT* 基因编码的 *LrMGT* 蛋白的跨膜结构分析
Fig. 5 Transmembrane structure analysis on *LrMGT* protein encoded by *LrMGT* gene from *Lycoris radiata* (L' Hér.) Herb.

2.4 石蒜 *LrMGT* 基因的组织表达特性分析

石蒜不同组织中 *LrMGT* 基因相对表达量的实时荧光定量 PCR 检测结果(图6)显示:石蒜 *LrMGT* 基因在石蒜根、鳞茎、叶片和花中的相对表达量差异较大。其中,*LrMGT* 基因在石蒜根中的相对表达量最高,其次为鳞茎;而在叶片和花中的相对表达量较低。由此可见,*LrMGT* 基因在石蒜中的表达具有一定的组织特异性。

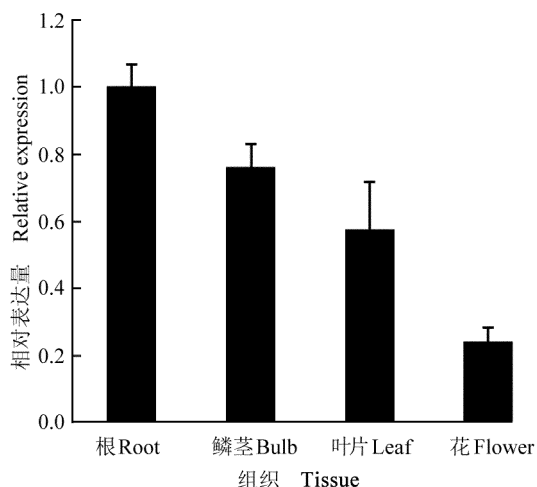


图6 石蒜不同组织中 *LrMGT* 基因相对表达量的比较
Fig. 6 Comparison on relative expression of *LrMGT* gene in different tissues of *Lycoris radiata* (L' Hér.) Herb.

3 讨论

随着分子生物技术的发展和应用,已经从不同植物中克隆到多个 *MGT* 基因,并对其编码的蛋白质的结构、生化和生理功能等进行了研究^[2]。作者以前期构建的高质量石蒜叶片全长 cDNA 文库为基础,克隆获得了石蒜 *LrMGT* 基因的全长 cDNA 序列。石蒜 *LrMGT* 基因与其他植物 *MGT* 基因编码的氨基酸序列的比对结果表明:*LrMGT* 基因编码的氨基酸序列与小米、水稻和拟南芥等植物 *MGT* 基因编码的氨基酸序列的同源性较高,相似性达到 72% ~ 76%,说明 *MGT* 基因序列在物种间具有保守性。另外,在 NJ 系统树上,石蒜与禾本科植物二穗短柄草、水稻、高粱和小米聚为同一个分支,在进化上具有相对较近的关系,说明石蒜与禾本科植物在进化上可能具有一定的关系。通过实时荧光定量 PCR 分析,石蒜根、鳞茎、叶片和花中 *LrMGT* 基因的相对表达量有明显差异,根中 *LrMGT* 基因的相对表达量最高、鳞茎中次之、花中最低。可见,该基因的表达具有较明显的组织特异性。

拟南芥 Mg^{2+}/H^{+} 交换体 AtMHX 是第 1 个从多细胞有机体中发现的 Mg^{2+} 转运蛋白,有 11 个跨膜区域,长度为 100 个氨基酸^[23];AtMHX 定位在液胞膜上,主

要存在于木质部薄壁细胞中^[2];此外,拟南芥 MGT 家族 (AtMGTs/AtMRS2s) 属于 CorA 类 Mg^{2+} 转运家族,有 10 个成员,其氨基酸序列有 15% ~ 89% 相同,整个家族有 6 个修饰保守区^[11];这些转运体在不同的组织和细胞器中起作用,且大多是膜蛋白。根据这些功能结构特点可将这个大家族分为 5 个亚家族: AtMGT1 和 AtMGT2, AtMGT3 和 AtMGT4, AtMGT5 和 AtMGT6, AtMGT7、AtMGT8 和 AtMGT9, AtMGT10^[11], 其中 AtMGT10 属于单独的亚家族。在本研究中,膜结构预测结果显示石蒜 *LrMGT* 蛋白拥有 7 个跨膜区,同样属于膜蛋白。因此,*LrMGT* 蛋白究竟属于哪种类型的 Mg^{2+} 转运蛋白,还需要进一步的验证。植物的 MGT 蛋白除了具有 Mg^{2+} 转运功能外,在 Al 胁迫抗性中也有一定作用^[24],而且 MGT 蛋白还参与了花粉管的发育^[25]。因此,石蒜 *LrMGT* 基因在植物体内具有的功能还需要进一步研究。

参考文献:

- [1] LILLEY R McC, HOLBOROW K, WALKER D A. Magnesium activation of photosynthetic CO_2 -fixation in a reconstituted chloroplast system[J]. New Phytologist, 1974, 73: 657-662.
- [2] SHAUL O. Magnesium transport and function in plants: the tip of the iceberg[J]. BioMetals, 2002, 15: 309-323.
- [3] WILLIAMS L, SALT D E. The plant ionome coming into focus[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2009, 12: 247-249.
- [4] MAATHUIS F J. Physiological functions of mineral macronutrients [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2009, 12: 250-258.
- [5] HORLITZ M, KLAFF P. Gene-specific trans-regulatory functions of magnesium for chloroplast mRNA stability in higher plants[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2000, 275: 35638-35645.
- [6] HUBER D M, JONES J B. The role of magnesium in plant disease [J]. Plant and Soil, 2012, 368: 73-85.
- [7] SILVA I R, SMYTH T J, ISRAEL D W, et al. Altered aluminum inhibition of soybean root elongation genotypes in the presence of magnesium[J]. Plant and Soil, 2001, 230: 223-230.
- [8] YANG J L, YOU J F, LI Y Y, et al. Magnesium enhances aluminum-induced citrate secretion in rice bean roots (*Vigna umbellata*) by restoring plasma membrane H^+ -ATPase activity[J]. Plant and Cell Physiology, 2007, 48: 66-73.
- [9] 郭照辉, 张德元, 毛丹丹, 等. 植物 Mg^{2+} 转运蛋白与相关基因及其功能的研究进展[J]. 生命科学研究, 2008, 12(3): 207-210.
- [10] SCHOCK I, GREGAN J, STEINHAUSER S, et al. A member of a novel *Arabidopsis thaliana* gene family of candidate Mg^{2+} ion transporters complements a yeast mitochondrial group II intron-splicing mutant[J]. The Plant Journal, 2000, 24: 489-501.
- [11] LI L, TUTONE A F, DRUMMOND R S, et al. A novel family of magnesium transport genes in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2001, 13: 2761-2775.
- [12] 丛悦玺, 骆东峰, 陈坤明, 等. 生物镁离子转运体研究进展 [J]. 农业生物技术学报, 2012, 20(7): 837-848.
- [13] HARVEY A L. The pharmacology of galanthamine and its analogues [J]. Pharmacology and Therapeutics, 1995, 68: 113-128.
- [14] WANG R, XU S, JIANG Y M, et al. *De novo* sequence assembly and characterization of *Lycoris aurea* transcriptome using GS FLX titanium platform of 454 pyrosequencing[J]. PLoS One, 2013, 8: e60449.
- [15] JIANG Y M, XIA B, LIANG L J, et al. Molecular cloning and analysis of a phenylalanine ammonia-lyase gene (*LrPAL2*) from *Lycoris radiata* [J]. Molecular Biology Reports, 2013, 40: 2293-2300.
- [16] LI X D, XIA B, WANG R, et al. Molecular cloning and characterization of S-adenosylmethionine synthetase gene from *Lycoris radiata* [J]. Molecular Biology Reports, 2013, 40: 1255-1263.
- [17] JIANG Y M, XIA N, LI X D, et al. Molecular cloning and characterization of a phenylalanine ammonia-lyase gene (*LrPAL*) from *Lycoris radiata* [J]. Molecular Biology Reports, 2011, 38: 1935-1940.
- [18] LI X D, XIA B, JIANG Y M, et al. A new pathogenesis-related protein, LrPR4, from *Lycoris radiata*, and its antifungal activity against *Magnaporthe grisea* [J]. Molecular Biology Reports, 2010, 37: 995-1001.
- [19] LI Y Z, LI X D, JIANG Y M, et al. Cloning and heterologous expression of a new 3'-hydroxylase gene from *Lycoris radiata* [J]. Zeitschrift für Naturforschung C, 2009, 64: 138-142.
- [20] 梁丽建, 江玉梅, 夏冰, 等. 石蒜儿茶酚氧位甲基转移酶基因克隆与原核表达[J]. 西北植物学报, 2012, 32(1): 23-28.
- [21] 王春燕, 夏冰, 李晓丹, 等. 石蒜叶片全长 cDNA 文库的构建[J]. 江苏农业学报, 2009, 25(3): 542-546.
- [22] 田畅, 蒋倩, 王枫, 等. 3 个芹菜品种 *Agnp-G3PDH* 基因的克隆及其序列和表达特性分析[J]. 植物资源与环境学报, 2014, 23(2): 1-10.
- [23] SHAUL O, HILGEMANN D W, De-ALMEIDA-ENGLER J, et al. Cloning and characterization of a novel Mg^{2+}/H^+ exchanger [J]. The EMBO Journal, 1999, 18: 3973-3980.
- [24] CHEN Z C, MA J F. Magnesium transporters and their role in Al tolerance in plants [J]. Plant and Soil, 2013, 368: 51-56.
- [25] MUELLER-ROEBER B, ARVIDSSON S. Fertility control: the role of magnesium transporters in pollen development [J]. Cell Research, 2009, 19: 800-801.

(责任编辑: 张明霞)