

## 2 个芹菜品种泛变应原 *Api g 4* 基因的克隆与分析

李梦瑶, 王 枫, 侯喜林, 蒋 倩, 马 静, 熊爱生<sup>①</sup>

(南京农业大学园艺学院 作物遗传与种质创新国家重点实验室 农业部华东地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 江苏 南京 210095)

**摘要:** 从芹菜(*Apium graveolens* Linn.)品种‘津南实芹’(‘Jinnanshiqin’)和‘美国西芹’(‘Meiguoxiqin’)中分别克隆获得泛变应原基因 *Api g 4*; 2 个品种的 *Api g 4* 基因均包含 1 个长度为 405 bp 的开放阅读框, 二者间有 3 个核苷酸位点的差异。2 个品种的 *Api g 4* 基因均能编码 134 个氨基酸, 但二者编码的氨基酸序列有 2 个位点的差异。多重比对以及进化树分析结果均表明: 2 个芹菜品种 *Api g 4* 基因编码的氨基酸序列与其他植物的泛变应原氨基酸序列同源性较高, 氨基酸序列高度保守; 与同科植物欧芹[*Petroselinum crispum* (Miller) Nyman ex A. W. Hill] 和胡萝卜(*Daucus carota* Linn.)的泛变应原氨基酸序列的同源性均达到 90% 以上, 在进化树上也归为同一支。2 个品种的泛变应原 *Api g 4* 均为疏水性蛋白, 具有相似的三维空间结构, 均包含 3 个  $\alpha$  螺旋和 7 个  $\beta$  折叠。实时定量 PCR 分析结果显示: *Api g 4* 基因在‘津南实芹’和‘美国西芹’根中的表达水平均最高, 在茎和茎尖分生组织中的表达水平相对较低, 在叶中的表达水平很弱, 且 2 个品种间同一组织的 *Api g 4* 基因表达水平也有差异, 表明 *Api g 4* 基因的表达具有明显的组织特异性。

**关键词:** 芹菜; 泛变应原; *Api g 4* 基因; 克隆; 同源性; 基因表达

中图分类号: Q785; Q943.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2013)01-0001-07

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2013.01.01

**Cloning and analysis of panallergen *Api g 4* gene from two cultivars of *Apium graveolens*** LI Mengyao, WANG Feng, HOU Xilin, JIANG Qian, MA Jing, XIONG Aisheng<sup>①</sup> (State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Ministry of Agriculture Key Laboratory of Biology and Germplasm Enhancement of Horticultural Crops in East China, College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2013, 22(1): 1-7

**Abstract:** Panallergen *Api g 4* gene was cloned from two cultivars ‘Jinnanshiqin’ and ‘Meiguoxiqin’ of *Apium graveolens* Linn., respectively, and *Api g 4* gene of two cultivars contains an open reading frame with the length of 405 bp, which exists the difference of three nucleotide sites and can encode 134 amino acids but the amino acid sequences encoded by both exist the difference with two amino acids. The analysis results of alignment and phylogenetic tree show that the amino acid sequences encoded by *Api g 4* gene from two cultivars and those of panallergens from other plants are highly homologous and are highly conserved. Homology of the amino acid sequences encoded by *Api g 4* gene from two cultivars and those of panallergens from same family species *Petroselinum crispum* (Miller) Nyman ex A. W. Hill and *Daucus carota* Linn. is above 90%, and they also are clustered in the same branch in phylogenetic tree. Panallergen *Api g 4* of two cultivars are all the hydrophobic protein, which have the similar three-dimensional structure with three  $\alpha$ -helixes and seven  $\beta$ -sheets. The result of quantitative real-time PCR shows that the expression level of *Api g 4* gene is the highest in root of ‘Jinnanshiqin’ and ‘Meiguoxiqin’, relatively lower in their stem and shoot-tip meristem and the weakest in their leaf, and the expression level of *Api g 4* gene in same tissue of two cultivar also has the difference, indicating the expression of *Api g 4* gene in ‘Jinnanshiqin’ and ‘Meiguoxiqin’ has an obvious tissue specificity.

收稿日期: 2012-07-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31272175); 教育部新世纪优秀人才支持计划(NECT-11-0670); 江苏省高校优势学科建设项目(2011PAPD); 江苏省双创计划项目(2011JSSC)

作者简介: 李梦瑶(1990—), 女, 湖北荆门人, 博士研究生, 主要从事蔬菜系统生物学研究。

<sup>①</sup>通信作者 E-mail: xiongaisheng@njau.edu.cn

**Key words:** *Apium graveolens* Linn.; panallergen; *Api g 4* gene; clone; homology; gene expression

肌动蛋白抑制蛋白 (profilin) 是 1 种相对分子质量 12 000 ~ 15 000 的蛋白质, 其功能是在植物体内将肌动蛋白单体隔开、抑制肌动蛋白丝的生长, 并在植物细胞中参与微丝的快速重组, 例如胞质分裂、胞质流动、细胞延长以及花粉管和根毛生长等<sup>[1-2]</sup>。由于其广泛分布于各种有致敏作用的植物器官中, 因而 profilin 也被称为泛变应原 (panallergen)<sup>[3]</sup>。泛变应原是一类氨基酸序列高度保守的蛋白质, 被认为是引起花粉和植物性食物间发生交叉反应的主要因素之一<sup>[1]</sup>。白桦 (*Betula platyphylla* Suk.) 中次变应原 Bet v 2 被证实为 profilin<sup>[4]</sup> 起, 目前已有学者从棕榈 [*Trachycarpus fortunei* (Hook.) H. Wendl.]、桃 (*Amygdalus persica* Linn.)、油橄榄 (*Olea europaea* Linn.) 和梯牧草 (*Phleum pratense* Linn.) 等许多植物中均分离出泛变应原 profilin<sup>[5-9]</sup>。

旱芹 (*Apium graveolens* Linn.) 俗称芹菜, 是伞形科 (Apiaceae) 一年或多年生草本植物, 起源于地中海和中东地区, 目前在世界范围内均有栽培。芹菜中含有丰富的胡萝卜素、维生素、挥发油及有机酸等多种营养成分, 具有很高的食用和药用价值, 其中的芹菜素和黄酮等生物活性成分还具有降低血压、调节血脂和降血糖的功效<sup>[10-11]</sup>。但芹菜是常见的过敏性食物之一, 目前已从芹菜中分离出的过敏原蛋白有 *Api g 1*、*Api g 2*、*Api g 4* 和 *Api g 5*<sup>[12-13]</sup>。因 *Api g 4* 与白桦中的 Bet v 2 具有较高的同源性能发生变态反应, 引起相关科研人员的关注。

鉴于此, 作者从形态相近、地域来源不同的 2 个芹菜品种‘津南实芹’ (‘Jinnanshiqin’) 和‘美国西芹’ (‘Meiguoxiqin’) 中分别克隆出 *Api g 4* 基因, 利用生物信息学方法推导其氨基酸序列, 并对其氨基酸组成、疏水性、空间结构及其与其他植物的进化关系进行预测与分析, 以期对芹菜致敏性及过敏原之间关系的研究提供理论基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试芹菜品种为本实验室保存的‘津南实芹’和‘美国西芹’, 种植于南京农业大学人工气候室和江浦实验农场。大肠杆菌菌株 DH5 $\alpha$  由本实验室保存; 质

粒载体 pMD18-T Vector、DNA 分子量 marker、*Ex Taq* DNA 聚合酶、Prime Script RT reagent Kit 和 SYBR Premix *Ex Taq* 试剂盒等均为宝生物工程 (大连) 有限公司生产; RNA simple Total RNA Kit 由天根生化科技 (北京) 有限公司生产。

实验仪器有超净工作台 (苏州安泰空气技术有限公司)、电热恒温培养箱 (上海博讯实业有限公司医疗设备厂)、全温震荡培养箱 (美国精骐有限公司)、PCR 仪 (德国 Eppendorf 公司)、DYY-6C 琼脂糖凝胶电泳仪 (北京市六一仪器厂)、凝胶成像系统 (美国 Bio-Rad 公司) 和 ABI7300 型实时荧光定量 PCR 仪 (美国应用生物系统公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 不同组织中总 RNA 提取及 cDNA 合成 采用 RNA simple Total RNA Kit 分别从‘津南实芹’和‘美国西芹’成熟植株的根、茎和叶等组织中提取总 RNA。用 Prime Script RT reagent Kit 将总 RNA 反转录成 cDNA。

1.2.2 *Api g 4* 基因的克隆 根据 GenBank 中 *Api g 4* 基因序列 (登录号为 AF129423) 设计 1 对引物 NXR29 和 NXR30, 序列分别为 5'-TTGCATGCGGACGGTGCTGTA-3' 和 5'-GGAATAACTAGTCCCGGACATT-3'。以 2 个品种的 cDNA 为模板进行扩增。PCR 反应程序为: 94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min; 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s, 54  $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 60 s, 共 30 个循环; 最后于 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min。PCR 产物用质量体积分数 1.2% 琼脂糖凝胶电泳并回收目的条带, 连接到 pMD18-T 载体上并转化至大肠杆菌 DH5 $\alpha$  中, 提取质粒经 PCR 鉴定后委托南京金斯瑞生物科技有限公司测序。

1.2.3 实时定量 PCR 反应 用芹菜 *actin* 基因作为参考基因, 与目标基因一起扩增, 表达检测引物为 ACTIN-F 和 ACTIN-R, 序列分别为 5'-GTTAGTATATACCGTCCTTC-3' 和 5'-GTACTTTAGCTCCACGACCG-3'。根据 2 个品种的 *Api g 4* 基因序列设计表达检测引物 NXR81 和 NXR82, 序列分别为 5'-CGAATAGACTCCTTTTCTCC-3' 和 5'-CTACTTGGACAATGAGGTCC-3'。采用 SYBR Premix *Ex Taq* 试剂盒并按照操作说明进行实时定量 PCR。以芹菜 *actin* 基因的转录表达水平为内参, 计算目的基因相对转录表达水平  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 。其中,  $\Delta\Delta\text{Ct} = (\text{Ct}_{\text{靶基因}} - \text{Ct}_{\text{内参}})$  处理组 -

( $Ct_{\text{靶基因}} - Ct_{\text{内参}}$ ) 对照组 (式中,  $Ct$  表示每个 PCR 反应管内荧光信号到达设定域值时所经历的循环数)<sup>[14]</sup>。

### 1.3 序列分析

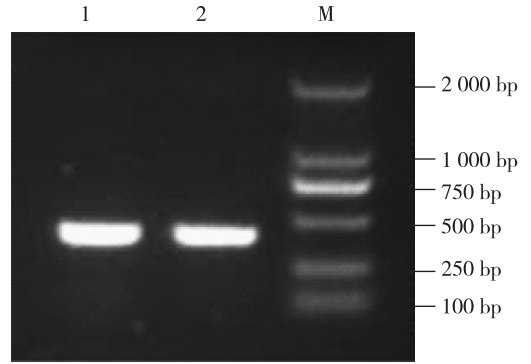
采用 Clustal X 软件进行氨基酸组成与多序列比对; 利用 GenBank 数据库的 BLASTp 程序计算同源性; 使用 MEGA4.0 软件进行进化树分析<sup>[15]</sup>; 通过 SWISS-MODEL (<http://swiss-model.expasy.org>) 建立蛋白质空间结构模型<sup>[16]</sup>。

## 2 结果和分析

### 2.1 芹菜 *Api g 4* 基因的克隆与序列分析

分别以‘津南实芹’和‘美国西芹’2 个品种的 cDNA 为模板、采用 NXR29 和 NXR30 引物进行 PCR 扩增, 分别得到长度约为 400 bp 的片段 (见图 1), 其片段长度与预期片段一致。序列分析结果表明: ‘津南实芹’和‘美国西芹’的 *Api g 4* 基因均含有 1 个长度 405 bp 的开放阅读框 (ORF, open reading frame), 分别编码 134 个氨基酸。其中‘津南实芹’*Api g 4* 基因的核苷酸序列及其编码的氨基酸序列见图 2。2 个

品种 *Api g 4* 基因的核苷酸序列有 3 个碱基的差异, 分别为第 85 位的 G/A、第 149 位的 C/T 和第 318 位的 C/T; 2 个品种的 *Api g 4* 基因编码的氨基酸序列有 2 个位点的差异, 分别为第 29 位的 Val/Thr 和第 50 位的 Thr/Ile。



1: ‘津南实芹’ *Apium graveolens* ‘Jinnanshiqin’; 2: ‘美国西芹’ *A. graveolens* ‘Meiguoxiqin’; M: Marker.

图 1 2 个芹菜品种 *Api g 4* 基因 cDNA 的 PCR 扩增图谱  
Fig. 1 PCR amplification pattern of cDNA of *Api g 4* gene from two cultivars of *Apium graveolens* Linn.

```

1  atgtcgtggcaggcgtacgttgacgatcattatgtgcgaggtgaaggcaatcagggtcaaacctaactgccgccgtattgtcggc
   M S W Q A Y V D D H L M C E V E G N P G Q T L T A A A I V G
91  cacgacggcagcgttgggctcagagctccactttcctcagattaagcctgaagagactgctggtattatgaaagacttcgacgagcct
   H D G S V W A Q S S T F P Q I K P E E T A G I M K D F D E P
181 ggccacctgcacctactggattgtaccttggcggagcgaagtacatggttattcaaggagagcctaactgctgttattcgtggcaagaag
   G H L A P T G L Y L G G A K Y M V I Q G E P N A V I R G K K
271 ggetetggagggtgaccataaagaagacgggccaagctctagtttctggagtctatgatgaacctgttactcaggacaatgcaaacatg
   G S G G V T I K K T G Q A L V F G V Y D E P V T P G Q C N M
361 attgtgagaggctggggattaccttattgatcagggcctgtaa
   I V E R L G D Y L I D Q G L *
    
```

\*: 终止密码子 Stop codon.

图 2 芹菜品种‘津南实芹’*Api g 4* 基因的核苷酸序列及其编码的氨基酸序列

Fig. 2 Nucleotide sequence of *Api g 4* gene from *Apium graveolens* ‘Jinnanshiqin’ and its encoding amino acid sequence

### 2.2 芹菜 *Api g 4* 基因及其他植物泛变应原基因编码的氨基酸序列比较及同源性分析

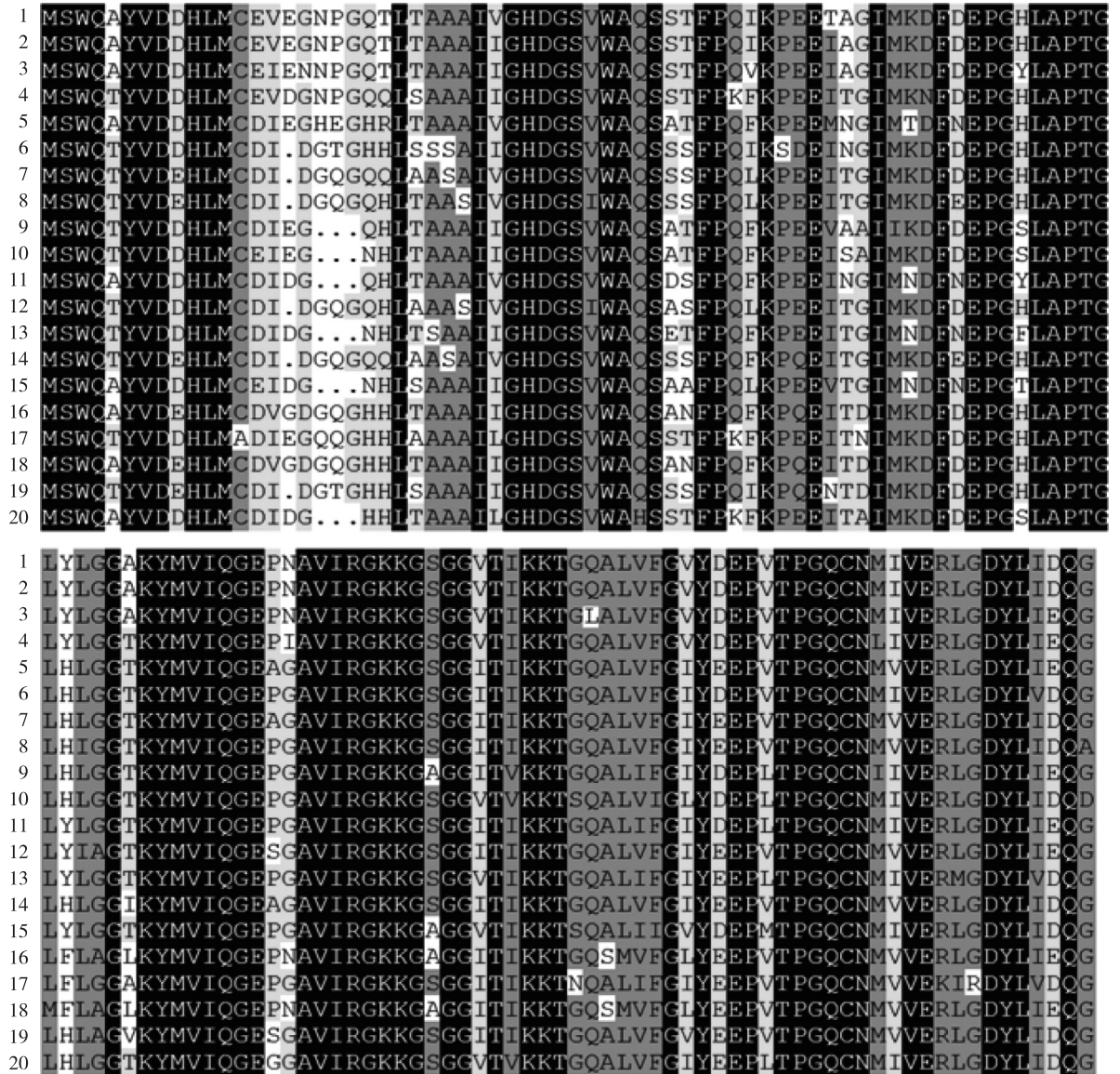
BLASTp 同源性检索与比对<sup>[17]</sup> 结果表明: ‘津南实芹’和‘美国西芹’*Api g 4* 基因编码的氨基酸序列与欧芹 [*Petroselinum crispum* (Miller) Nyman ex A. W. Hill]、胡萝卜 (*Daucus carota* Linn.)、油橄榄 (*Olea europaea* Linn.)、大豆 [*Glycine max* (Linn.) Merr.]、欧洲榛 (*Corylus avellana* Linn.)、蓖麻 (*Ricinus communis*

Linn.)、栓皮栎 (*Quercus suber* Linn.)、毛果杨 (*Populus trichocarpa* Torr. et A. Gray)、山黧 (*Mercurialis annua* Linn.)、樟树 [*Cinnamomum camphora* (Linn.) Presl]、葡萄 (*Vitis vinifera* Linn.)、垂枝桦 (*Betula pendula* Roth.)、葎草 [*Humulus scandens* (Lour.) Merr.]、玉山筷子芥 (*Abaris lyrata* Linn.)、烟草 (*Nicotiana tabacum* Linn.)、拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (Linn.) Hey.]、蒺藜苜蓿 (*Medicago truncatula* Gaertn.) 和苹果 (*Malus*



*pumila* Miller) 的泛变应原氨基酸序列相似度较高,其中与同科植物欧芹和胡萝卜的同源一致性分别达到 94% 和 91%, 与其他种类的同源一致性约为 80%。将‘津南实芹’和‘美国西芹’*Api g 4* 基因编码的氨基酸序列与上述种类泛变应原基因编码的氨基酸序列

进行多重比对,结果表明(图 3):这些泛变应原的氨基酸序列保守区域较大,且连续相同的氨基酸残基数目较多,最长片段的氨基酸残基数达到 8 个,分别为 KYMVIQGE 和 AVIRGKKG, 推测它们可能是潜在的抗原决定簇,能够引发机体的过敏反应。



1. ‘津南实芹’*Apium graveolens* ‘Jinnanshiqin’; 2. ‘美国西芹’*A. graveolens* ‘Meiguoxiqin’; 3. 欧芹 *Petroselinum crispum* (Miller) Nyman ex A. W. Hill; 4. 胡萝卜 *Daucus carota* Linn.; 5. 橄榄油 *Olea europaea* Linn.; 6. 大豆 *Glycine max* (Linn.) Merr.; 7. 欧洲榛 *Corylus avellana* Linn.; 8. 蓖麻 *Ricinus communis* Linn.; 9. 栓皮栎 *Quercus suber* Linn.; 10. 毛果杨 *Populus trichocarpa* Torr. et A. Gray; 11. 樟树 *Cinnamomum camphora* (Linn.) Presl; 12. 山肤 *Mercurialis annua* Linn.; 13. 葡萄 *Vitis vinifera* Linn.; 14. 垂枝桦 *Betula pendula* Roth.; 15. 葎草 *Humulus scandens* (Lour.) Merr.; 16. 玉山筷子芥 *Abaris lyrata* Linn.; 17. 烟草 *Nicotiana tabacum* Linn.; 18. 拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (Linn.) Hey.; 19. 蕺菜 *Medicago truncatula* Gaertn.; 20. 苹果 *Malus pumila* Miller.

图 3 2 个芹菜品种 *Api g 4* 基因编码的氨基酸序列与其他植物泛变应原氨基酸序列的多重比对结果  
Fig. 3 Alignment result of amino acid sequences encoded by *Api g 4* gene from two cultivars of *Apium graveolens* Linn. with that of panallergens from other species

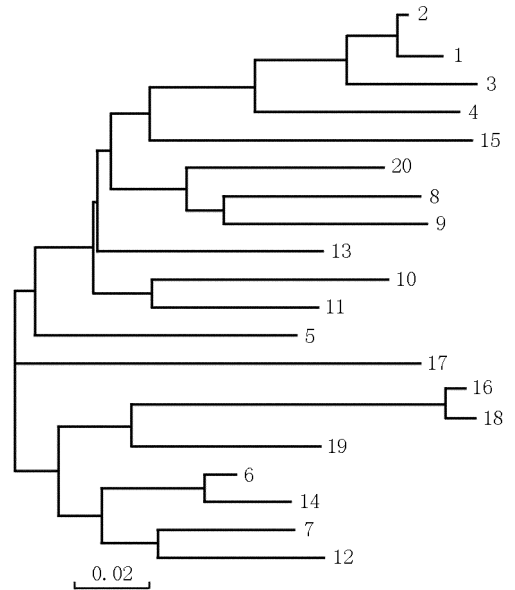
为了进一步分析从‘津南实芹’和‘美国西芹’中分离的 *Api g 4* 基因编码的蛋白质与其他植物泛变应原的进化关系,构建了同源进化树(图4),结果表明:‘津南实芹’和‘美国西芹’的 *Api g 4* 蛋白与同科的欧芹和胡萝卜所含的泛变应原蛋白进化关系最近。

### 2.3 ‘津南实芹’*Api g 4* 基因编码的氨基酸序列疏水性/亲水性分析

对克隆获得的‘津南实芹’*Api g 4* 基因编码的氨基酸序列进行了 DNAMAN 疏水性/亲水性分析,结果见图5。结果表明:该蛋白的第105位缬氨酸(Val)疏水性最强,第27位丙氨酸(Ala)和第26位丙氨酸(Ala)的疏水性其次;第89位赖氨酸(Lys)亲水性最强,第88位甘氨酸(Gly)和第56位天冬氨酸(Asp)的亲水性其次。总体上看(图5),‘津南实芹’*Api g 4* 基因编码的蛋白属于疏水性蛋白。此外,对‘美国西芹’*Api g 4* 基因编码的氨基酸序列的疏水性/亲水性分析结果也显示:‘美国西芹’的 *Api g 4* 基因编码的蛋白也属于疏水性蛋白。

### 2.4 芹菜 *Api g 4* 蛋白结构预测与分析

以橡胶树[*Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Muell. Arg.]的变应原 Hevb8 的 Chain A (PDB ID: 1G5U)为模型,通过 SWISS-MODEL 进行三维结构同源建模,结果显示(图6):‘津南实芹’和‘美国西芹’泛变应原蛋白 *Api g 4* 与 Hevb8 在蛋白质核心区域的氨基酸序列相似性分别为 78.2% 和 78.9%, 比对参



1. ‘津南实芹’*Apium graveolens* ‘Jinnanshiqin’; 2. ‘美国西芹’*A. graveolens* ‘Meiguoxiqin’; 3. 欧芹 *Petroselinum crispum* (Miller) Nyman ex A. W. Hill; 4. 胡萝卜 *Daucus carota* Linn.; 5. 大豆 *Glycine max* (Linn.) Merr.; 6. 欧洲榛 *Corylus avellana* Linn.; 7. 蓖麻 *Ricinus communis* (Linn.) Merr.; 8. 栓皮栎 *Quercus suber* Linn.; 9. 毛果杨 *Populus trichocarpa* Torr. et A. Gray; 10, 11. 樟树 *Cinnamomum camphora* (Linn.) Presl; 12. 山黧 *Mercurialis annua* Linn.; 13. 葡萄 *Vitis vinifera* Linn.; 14. 垂枝桦 *Betula pendula* Roth.; 15. 葎草 *Humulus scandens* (Lour.) Merr.; 16. 玉山筷子芥 *Abaris lyrata* Linn.; 17. 烟草 *Nicotiana tabacum* Linn.; 18. 拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (Linn.) Hey.; 19. 蒺藜苜蓿 *Medicago truncatula* Gaertn.; 20. 苹果 *Malus pumila* Miller.

图4 基于泛变应原氨基酸序列的2个芹菜品种及其他植物的系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of two cultivars of *Apium graveolens* Linn. and other species basis on amino acid sequences of panallergens

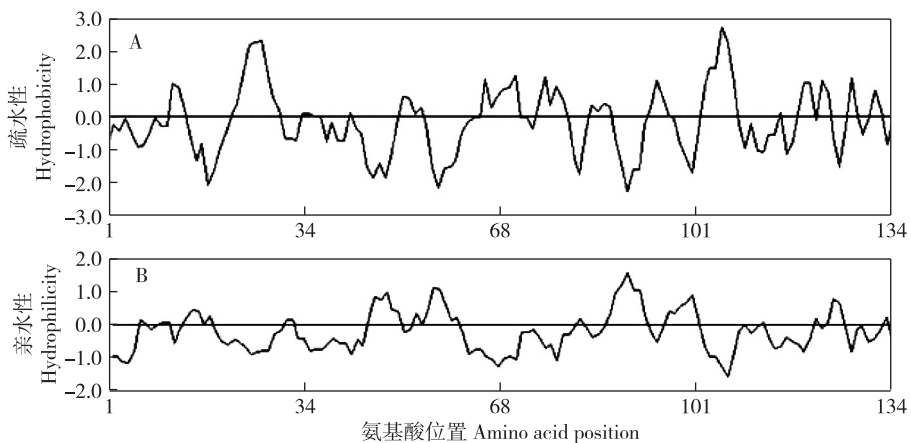


图5 ‘津南实芹’*Api g 4* 基因编码的氨基酸序列的疏水性(A)和亲水性(B)

Fig. 5 Hydrophobicity (A) and hydrophilicity (B) of amino acid sequence encoded by *Api g 4* gene from *Apium graveolens* ‘Jinnanshiqin’

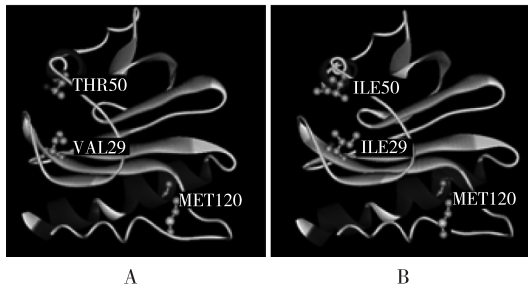
数分别为  $E\text{-value}=8e-60$  和  $E\text{-value}=3e-60$ 。‘津南实芹’的 *Api g 4* 蛋白与‘美国西芹’的 *Api g 4* 蛋白有2个氨基酸位点的差异,二者具有相似的三维空间结

构,均具有3个 $\alpha$ 螺旋和7个 $\beta$ 折叠。

### 2.5 芹菜不同组织中 *Api g 4* 基因的表达分析

通过实时定量 PCR 检测 *Api g 4* 基因在‘津南实

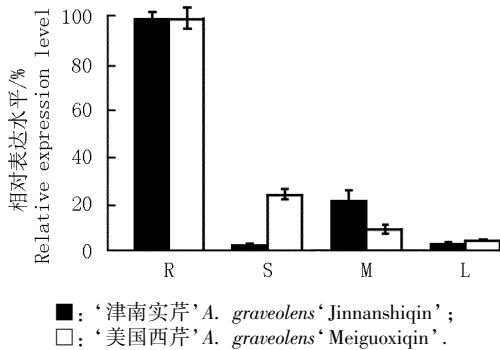
芹’和‘美国西芹’不同组织中的表达水平,结果见图7。由图7可见:*Api g 4*基因在‘津南实芹’和‘美国西芹’根中的表达水平均最高,在2个品种的茎和茎尖分生组织中的表达水平相对较低,在叶中的表达水平很弱。由2个品种间的比较可见:*Api g 4*基因在‘美国西芹’茎中的相对表达量显著高于‘津南实芹’茎;在‘美国西芹’茎尖分生组织中的相对表达量则低于‘津南实芹’,由此可见,*Api g 4*基因的表达水平在2个品种间具有一定的组织特异性。



A: ‘津南实芹’ *A. graveolens* ‘Jinnanshiqin’;  
B: ‘美国西芹’ *A. graveolens* ‘Meiguoxiqin’.

球棒表示差异氨基酸 Ball and stick represent the different residues of amino acids.

图6 2个芹菜品种 *Api g 4* 蛋白的三维结构建模  
Fig. 6 The three-dimensional structural model of *Api g 4* protein from two cultivars of *Apium graveolens* Linn.



R: 主根 Main root; S: 茎 Stem; M: 茎尖分生组织 Shoot-tip meristem;  
L: 叶片 Leaf.

图7 2个芹菜品种不同组织中 *Api g 4* 基因相对表达量的比较  
Fig. 7 Comparison of relative expression amount of *Api g 4* gene in different tissues of two cultivars of *Apium graveolens* Linn.

### 3 讨 论

变态反应(也称过敏反应)是指机体受到抗原物质刺激时发生的一类特殊免疫反应<sup>[18]</sup>。泛变应原能够引起过敏病人发生变态反应,导致身体组织损伤和

免疫功能紊乱<sup>[19]</sup>。开展对泛变应原的研究、寻找可能引起过敏反应的抗原决定簇的氨基酸序列,能够为从分子水平上改善或修饰变应原提供理论依据。

本实验采用的‘津南实芹’是中国本土培育的品种,而另一品种‘美国西芹’来源于美国,二者虽然起源不同,但在外部形态上有一定的相似性。从‘津南实芹’和‘美国西芹’中获得的 *Api g 4* 基因有3个核苷酸位点的差异,其编码的氨基酸序列有2个位点的差异,这些差异可能与某些特定的生理功能有关。

2个芹菜品种 *Api g 4* 基因主要在根中表达,在茎和茎尖分生组织中的表达量相对较低,在叶中表达很弱;另外, *Api g 4* 基因在‘津南实芹’和‘美国西芹’茎和茎尖分生组织中的表达量呈现相反的规律,可见该基因的表达具有较明显的种类及组织特异性。*Api g 4* 基因在植物的生长发育过程中有重要作用,其表达特点可能与泛变应原 *Api g 4* 在植物体内参与不同的生理过程有关。芹菜体内包含的能诱发过敏反应的过敏原较多,过敏机制也较为复杂,引发过敏反应也可能是过敏原间相互作用的结果。

氨基酸序列同源性及进化树分析结果显示:‘津南实芹’和‘美国西芹’的 *Api g 4* 蛋白与其他植物的泛变应原氨基酸序列高度保守,同源性很高。这些泛变应原含有较多连续相同的氨基酸片段,推测这些片段可能为潜在的抗原决定簇,能够引发机体的过敏反应。在进化树上2个芹菜品种与其同科植物欧芹和胡萝卜归于同一个进化分支,在进化上具有相对较近的关系,这一结果也为探讨伞形科植物的亲缘关系提供了佐证。此外,从进化树上可知:来源于不同种类的泛变应原序列遗传距离较近,表明不同种类间泛变应原蛋白的进化关系较近。据此推测高等植物中的泛变应原蛋白可能是由共同的祖先蛋白进化而来的,并且是高等植物中广泛存在的一类重要蛋白。

### 参考文献:

- [1] VIETHS S, SCHEURER S, BALLMER-WEBER B. Current understanding of cross reactivity of food allergens an pollen[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2002, 964(1): 47-68.
- [2] RAMAEHANDRAN S, CHRISTENSEN H E, ISHIMARU Y, et al. Profilin plays a role in cell elongation, cell shape maintenance, and flowering in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2000, 124: 1637-1647.
- [3] VALENTA R, DUCHENE M, EBNER C, et al. Profilins constitute a novel family of functional plant pan-allergens[J]. The Journal of Experimental Medicine, 1992, 175: 377-385.



- [4] VALENTA R, DUCHENE M, PETTENBURGER K, et al. Identification of profilin as a novel pollen allergen; IgE auto-reactivity in sensitized individuals[J]. *Science*, 1991, 253: 557-560.
- [5] ASTURIAS J A, IBARROLA I, FERNÁNDEZ J, et al. Phod 2, a major allergen from date palm pollen, is a profilin: cloning, sequencing, and immunoglobulin E cross-reactivity with other profilins[J]. *Clinical and Experimental Allergy*, 2005, 35(3): 374-381.
- [6] RODRÍGUEZ-PÉREZ R, FERNÁNDEZ-RIVAS M, GONZÁLEZ-MANCEBO E, et al. Peach profilin: cloning, heterologous expression and cross-reactivity with Bet v 2[J]. *Allergy*, 2003, 58(7): 635-640.
- [7] SCHEURER S, WANGORSCH A, HAUSTEIN D, et al. Cloning of the minor allergen *Api g 4* profilin from celery (*Apium graveolens*) and its cross-reactivity with birch pollen profilin Bet v 2[J]. *Clinical and Experimental Allergy*, 2000, 30(7): 962-971.
- [8] ASTURIAS J A, ARILLA M C, GOMEZ-BAYON N, et al. Cloning and expression of the panallergen profilin and the major allergen (Ole e 1) from olive tree pollen[J]. *Journal of Allergy Clinical Immunology*, 1997, 100: 365-372.
- [9] ASTURIAS J A, ARILLA M C, BARTOLOME B, et al. Sequence polymorphism and structural analysis of timothy grass pollen profilin allergen (Phl p 11) [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1997, 1352: 253-257.
- [10] 严建刚, 张名位, 杨公明, 等. 芹菜提取物的降血脂与抗氧化作用的研究[J]. *中国食品学报*, 2005, 5(3): 1-4.
- [11] 邢 渊, 丁博儒. 芹菜对糖尿病及并发症的辅助治疗作用[J]. *实用糖尿病杂志*, 2006, 3(1): 60-61.
- [12] WÜTHRICH B. Zur Nahrungsmittelallergie. Häufigkeit der Symptome und der allergieauslösenden Nahrungsmitteln bei 402 Patienten-Kuhmilchallergie-Nahrungsmittel und Neurodermitis atopica[J]. *Allergologie*, 1993, 16: 280-287.
- [13] GADERMAIER G, EGGER M, GIRBL T, et al. Molecular characterization of *Api g 2*, a novel allergenic member of the lipid-transfer protein 1 family from celery stalks [J]. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2011, 55(4): 568-577.
- [14] PFAFFL M W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR [J]. *Nucleic Acids Research*, 2001, 29: e45.
- [15] 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.
- [16] SCHWEDE T, KOPP J, GUEX N, et al. SWISS-MODEL: an automated protein homology-modeling server [J]. *Nucleic Acids Research*, 2003, 31: 3381-3385.
- [17] ALTSCHUL S F, MADDEN T L, SCHÄFFER A A, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs [J]. *Nucleic Acids Research*, 1997, 25: 3389-3402.
- [18] 陈 鹏, 郭彦飞, 闫 倩. 植物源过敏蛋白[J]. *生命的化学*, 2011, 31(3): 465-472.
- [19] KAZEMI-SHIRAZI L, NIEDERBERGER V, LINHART B, et al. Recombinant marker allergens: diagnostic gatekeepers for the treatment of allergy [J]. *International Archives of Allergy and Immunology*, 2002, 127: 259-268.

(责任编辑: 惠 红)

## 《植物资源与环境学报》征稿简则

1. 《植物资源与环境学报》是江苏省中国科学院植物研究所、江苏省植物学会等单位联合主办的学报, 季刊, 1992 年创刊, 国内外公开发行。系全国中文核心期刊、中国科技核心期刊、CSCD 核心期刊和 RCCSE 中国核心学术期刊(A)。连续多届荣获“江苏省优秀期刊”奖; 1997 年荣获“全国优秀科技期刊三等奖”和华东地区优秀期刊奖; 2001 年入选“中国期刊方阵”; 2002 和 2004 年入选“江苏省期刊方阵”; 2013 年荣获首届“江苏新闻出版政府奖——报刊奖”。是 BA、CA、CABI、Elsevier's、中国科学引文数据库、万方数据——数字化期刊群和中国学术期刊(光盘版)等国内外著名数据库和文摘类刊物固定收录的来源期刊。主要刊登植物资源的考察、开发、利用和物种保护, 自然保护区与植物园的建设和管理, 植物在保护和美化生态环境中的作用, 环境对植物的影响以及与植物资源和植物环境有关学科领域的原始研究论文、研究简报和综述(综述由本刊约稿)等, 不登译稿。
2. 主要读者对象为植物学、生态学、自然地理学以及农、林、园艺、医药、食品、轻工、自然保护和环境保护等领域的科研、教学、技术人员及决策者。
3. 来稿要求:
  - (1) 来稿请通过本刊的网上投稿系统按照说明注册后投稿, 网址为 <http://www.cnbg.net/Tg/Contribute/Login.aspx>。文稿应论点明确, 数据可靠, 文字精炼, 做到齐、清、定。
  - (2) 来稿请使用规范汉字, 标点符号使用要求准确, 连字号和范围号及减号、键号须分清。
  - (3) 研究论文书写顺序为: 题目, 作者姓名, 作者单位, 所在地区及邮政编码, 中文摘要(500 字以内), 关键词(6 个以内), 英文摘要(包括英文题目、作者姓名、单位、地区及邮编、摘要内容、关键词等, 英文摘要内容一般与中文摘要一致), 正文, 参考文献。研究简报附简单英文摘要(另附英文摘要的中文译文, 以便审阅), 其他与研究论文相同。

(下转第 19 页 Continued on page 19)