

## 番茄转化酶抑制子基因克隆及其表达分析

姜晶\*, 李冬妮, 孙威

沈阳农业大学园艺学院, 辽宁省设施园艺重点实验室, 沈阳 110161

**摘要:** 从普通栽培型番茄品种‘桃太郎’、野生醋栗番茄和潘那利番茄的幼苗中采用 RT-PCR 方法, 扩增出转化酶抑制子基因 cDNA 序列的部分片段。经测序表明: 不同基因型番茄的转化酶抑制子基因同源性高达 97.97% 以上。采用半定量 RT-PCR 方法对‘桃太郎’苗期根、茎、叶和花后功能叶、花期子房以及果实不同发育阶段不同部位的表达进行检测, 结果表明: *INH* 在根中表达较弱, 茎中有强烈表达, 从幼叶到衰老叶表达逐渐减弱; 同一时期 *INH* 在果肉中表达相对较强, 维管束次之, 胶质胎座相对较弱; 花期子房中 *INH* 的表达逐渐增强, 花后 3 d 左右达到最大, 花后 5~8 d 表达量迅速下降。

**关键词:** 番茄; 转化酶抑制子; RT-PCR; 基因表达

## Cloning and Expression Analysis of Invertase Inhibitor Gene (*INH*) from Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

JIANG Jing\*, LI Dong-Ni, SUN Wei

College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Liaoning Key Laboratory of Protected Horticulture, Shenyang 110161, China

**Abstract:** The cDNA fragments of invertase inhibitor were obtained by RT-PCR from different genotype tomato ‘Momotaro’, *Lycopersicon pimpinellifolium* and *Lycopersicon pennellii*. These sequences showed highly homology (above 97.97%) to the published sequences of *INH* respectively. The expression patterns of the cDNAs were examined in ‘Momotaro’ various tissues during different stages by semi-quantitative RT-PCR. The results showed that *INH* gene expressed lowly in roots, significantly highly in stem and decreased from young leaves to senescent leaves. The expression of *INH* gene in sarcocarp was the highest relatively, which in fruit vascular was secondary and in pectinic placenta was weak. The expression of *INH* gene increased in ovaries of inflorescence stage, and was highest on the 3rd day after anthesis, then rapidly decreased from 5 to 8 days after anthesis.

**Key words:** tomato (*Lycopersicon esculentum*); invertase inhibitor; RT-PCR; gene expression

酸性转化酶对调节植物韧皮部糖的卸载、控制贮藏器官中糖的组成、参与植物对逆境胁迫的响应、影响植物早期生长发育以及植物体中信号转导都有作用(Smeekens 2000)。因此通过改变转化酶活性来调控碳水化合物的代谢与分配, 进而特异地改变植物的生长和发育模式有一定的意义。但转化酶都是多糖修饰的非常稳定的酶, 所以它们的活性沉默要依赖于翻译后调控(Haruki 2002), 而内源蛋白抑制子的调节是植物酸性转化酶翻译后调节的一个方面, 因而受到人们的关注。蛋白抑制子(protein inhibitor)存在于植物发育的特定阶段, 它在植物中并非广泛存在, 其作用似乎只限于酸性转化酶(Sander 等 1996; 孙威和姜晶 2008)。

迄今, 大规模测序项目使植物序列信息得到迅速积累, 并已证实植物转化酶抑制子(invertase

inhibitor, *INH*)蛋白的普遍存在(Bracho 和 Whitaker 1990; Pressey 1994; Greiner 等 1998; Bate 等 2004), 但对其基因的克隆及生理作用的阐述还只是刚开始。不同作物 *INH* 异位过量表达已揭示这些蛋白的生物技术潜能, 例如马铃薯块茎低温糖化的抑制(Greiner 等 1999; 成善汉等 2007)以及甜菜采后蔗糖的稳定性(Vukov 和 Hangyal 1985); 在烟草中已初步获得了正义和反义抑制子转基因植株(Greiner 等 1999; Zrenner 等 1996), 但还有很多生理功能问题尚未解决。目前, 有关番茄 *INH* 的研究主要集中在纯化和分析其蛋白二级结构上, 而其基因的克隆和表达的分析尚未见报道。本文采用 *INH* 基因的

收稿 2008-11-06 修定 2009-01-14

资助 辽宁省教育厅科学研究技术计划(05L412)。

\* E-mail: jj\_syau@hotmail.com; Tel: 024-88487143

克隆和分析技术, 探明其在番茄植株发育过程中的表达模式, 为进一步用转基因技术探讨该基因在番茄蔗糖代谢中分子生物学机制建立基础资料。

## 材料与amp;方法

试材为番茄(*Lycopersicon esculontum* Mill.)栽培品种‘桃太郎’(‘Momotaro’)、野生醋栗番茄(*Lycopersicon pimpinellifolium*)和潘那利番茄(*Lycopersicon pennellii*)。分别取0.1 g嫩叶, 按组织/Trizol试剂(Invitrogen公司)为50~100 mg·mL<sup>-1</sup>提取总RNA, 用于转化酶抑制子基因片段克隆。当番茄品种‘桃太郎’幼苗长到四叶一心时, 一部分直接取根、茎和叶; 另一部分定植。然后选长势一致的番茄, 在第一花序第一花开后10、45 d取花下第一片叶; 花后10、15、20、35、45、55 d, 取果实的果肉、果实维管束和胶质胎座; 取花前12 d、花前8 d和花后0、3、8 d的子房。立即置于液氮中, 用于总RNA提取。3株混合算为1次重复, 每处理每次重复取样3次。

根据GenBank中所登录番茄*INH*基因的cDNA序列(登录号AJ010943), 利用DNAMAN 5.0软件进行引物设计, 正向引物INHE-F: 5' TGTTTCTT-GCTATGTTGC 3', 反向引物INHE-R: 5' TCTTCAATGGCTCTACC 3', 委托上海生工生物工程有限公司合成。

以提取的RNA为模板按Fermenta试剂盒(TaKaRa公司)进行反转录合成cDNA, 之后向反应体系中加入2 μL模板cDNA、2 μL 10×Taq缓冲液(含Mg<sup>2+</sup>)、各2 μL *INH*正向和反向引物、0.5 μL 10 mmol·L<sup>-1</sup> dNTP、0.5 μL Taq DNA聚合酶, 加水至20 μL。反应参数为94 °C 预变性5 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 1 min, 40个循环; 72 °C 延伸10 min。

PCR产物克隆和分析序列时, PCR产物用0.8%的琼脂糖凝胶电泳检测, 目的DNA片段利用DNA片段纯化回收试剂盒(TianGen公司)回收后与载体pBS-T (TianGen公司)连接, 转化大肠杆菌DH5α感受态细胞(TaKaRa公司)。用质粒提取试剂盒(TianGen公司)提取质粒, 以质粒DNA为模板进行PCR鉴定, 委托上海生工生物工程有限公司测定DNA序列。采用DNAMAN 5.0软件进行序列分析。

半定量RT-PCR分析时, 将‘桃太郎’不同处理的总RNA样品经DNase I (Sigma公司)于37 °C处理30 min, 以去除DNA。mRNA半定量RT-PCR操作参考Fridman和Zamir (2003)的方法进行。然后用分光光度计测定OD值, 稀释到相同浓度, 做为RT-PCR模板。在反应体系中加入0.5 μL模板cDNA、1 μL 10×Taq缓冲液(含Mg<sup>2+</sup>)、各0.5 μL *INH*正向和反向引物、各0.5 μL内标基因*Actin*的扩增引物(内标基因引物: 5' AGCAACTGGGATG-ATATGG 3'和5' ATTTCGCTTTCAGCAGTGGT 3')、0.15 μL 10 mmol·L<sup>-1</sup> dNTP、0.1 μL Taq DNA聚合酶, 加水至10 μL。内标引物和特异引物分别扩增, 反应条件为94 °C 5 min; 94 °C 30 s、55 °C 30 s、72 °C 1 min, 前者为25个循环, 后者为35个循环; 72 °C延伸10 min。PCR产物用1.2%的琼脂糖凝胶电泳检测。所有的RT-PCR实验重复3次。

## 实验结果

### 1 不同品种番茄*INH*基因的克隆与序列比对分析

以不同番茄总RNA为模板, 进行RT-PCR扩增, 扩增产物经0.8%琼脂糖凝胶电泳检测, 均扩增得到预期大小的长为479 bp的*INH*的cDNA片段(图1), 经回收纯化后与载体pBS-T连接, 转化大肠杆菌DH5α。蓝白斑筛选, 挑取白斑克隆提取质粒。以特异引物进行PCR扩增, 得到与预期大小相吻合的DNA片段(图2), 这表明PCR产物已克隆到载体上。将鉴定为阳性的克隆进一步进行测序。

将不同品种番茄的同一序列在DNAMAN 5.0中进行多序列比对。结果(图3)表明: 不同品种番茄*INH*基因的同源性高达97.97%以上; 与烟草细胞壁、烟草液泡、马铃薯、拟南芥*INH*基因的同源性

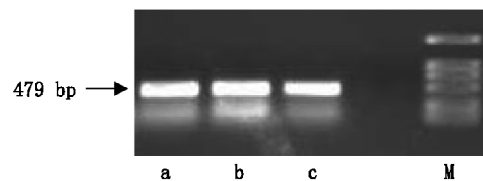


图1 番茄*INH*基因的RT-PCR产物电泳图谱  
Fig.1 Electrophoresis pattern of RT-PCR products of *INH* gene in tomato

M: DNA分子标记DL 2000; a: ‘桃太郎’; b: 醋栗番茄; c: 潘那利番茄。

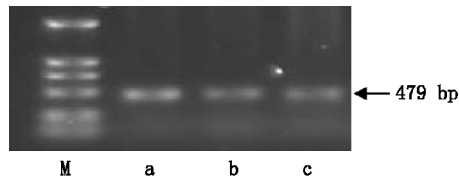


图2 番茄 *INH* 基因的质粒 PCR 产物电泳图谱  
Fig.2 Electrophoresis pattern of plasmid PCR products of *INH* gene in tomato

M: DNA 分子标记 DL 2000; a: '桃太郎'; b: 醋栗番茄; c: 潘那利番茄。

同源性分别为 81.31% (GenBank 登录号 Y12805)、50.33% (GenBank 登录号 Y12806)、34.29% (GenBank 登录号 AF459079)、43.75% (GenBank 登录号 Y12807)。

## 2 *INH* 基因组织特异性表达分析

**2.1 *INH* 基因在番茄根、茎和叶中的表达** 结果如图 4 所示, *INH* 在苗期(四叶一心时期)根中的表达量极其微弱,而在茎部表达强烈,在叶片部的表达程度介于前两者之间。随着植株生长,幼叶转变成功能叶片(源叶),与苗期相比, *INH* 在花期叶片花后 10 d 的表达明显减弱。进入成熟期,功能叶片(源叶)逐渐衰老,在花后 45 d 的衰老的功能叶片中, *INH* 的表达量继续减弱。

**2.2 *INH* 基因在番茄花期子房中的表达** 从图 5 可以看出, *INH* 表达程度在花期子房中有显著差异。现蕾初期(花前 12 d),子房中 *INH* 基因表达微弱,随着花朵逐渐盛开(花前 8 d 至花后 0 d)表达量迅速增强。待到花后 3 d, *INH* 表达量达到最大;花后 8 d 花瓣凋谢,表达量也降低到最低水平。

**2.3 *INH* 基因在番茄果实中表达** 结果(图 6)显示, *INH* 基因在花后 10~15 d 的果肉和维管束组织中高水平表达,随着发育进行,各个部位的表达程度逐渐下降,但总体上仍保持在较高水平。花后 45 d 各部位表达量有所回升,之后在花后 55 d 骤降到较低水平。在果实发育过程中,同一时期各个部位的 *INH* 表达差异不太显著,从图中数值可以看出,果肉中表达相对较强,维管束次之,胶质胎座相对较弱。

## 讨 论

将不同番茄 *INH* 基因的 cDNA 序列进行比对,显示出较高同源性,说明其在番茄中是高度保守

的。而不同物种 *INH* 的 cDNA 序列对比结果均显示较低同源性,例如:与烟草(Y12806)、马铃薯(AF459079)和拟南芥的(Y12807)同源性分别为 50.33%、34.29% 和 43.75%。说明在进化过程中抑制子基因的变异较大,因而很难通过序列比较来鉴定不同物种抑制子的功能(Rausch 和 Greiner 2004)。

己糖/蔗糖比值的意义与 *INH* 的作用在番茄生长发育过程中都得到充分体现,己糖/蔗糖比值变化好似转导信号起引起 *INH* 发挥作用(Rolland 等 2002)。 *INH* 在快速膨大期(花后 0~35 d)呈现较高表达。此时为产量形成期,果实快速生长,蔗糖进入果肉细胞时是不分解的,直接经过共质体进行运输,迅速合成为淀粉或被分解用于功能和组织构建(齐红岩等 2005),因此这段时期内番茄果实没有积累大量的果糖。随后进入绿熟期, *INH* 表达稍微减弱,果实膨大速率减慢。此时也正是番茄果实品质形成期,蔗糖降解增大,形成大量的以积累果糖为主的可溶性糖。虽然转色阶段(花后 45 d) *INH* 表达增强,但胶质胎座的酸性转化酶活性也明显增大(刘以前等 2006),总体上还原糖含量还会大量增加。在完熟期虽然 *INH* 表达急剧下降,但蔗糖继续在转化酶的催化下转化成果糖和葡萄糖(刘以前等 2006),己糖/还原糖的比值依据品种不同而有差异。

番茄的果肉、维管束和胶质胎座中 *INH* 表达量的依次减弱,说明蔗糖是依本身浓度梯度而运输的(齐红岩等 2005)。在番茄果实维管束系统中,光合产物主要以蔗糖的形式运输,从维管束系统卸载到果实胶状物质后,分解成为果糖和葡萄糖。 *INH* 在维管束中的大量表达,是蔗糖在维管束不受降解的主要原因。另外在库器官(果实)的非维管组织中较弱表达,有利于蔗糖的分解,形成葡萄糖和果糖,并形成源和库之间的蔗糖浓度梯度,促进蔗糖的卸载。而茎中 *INH* 的强烈表达,也同样可以确保蔗糖在运转过程中很少被分解。

随着叶片的衰老, *INH* 表达逐渐减弱。表明在番茄叶片发育早期,蔗糖以输入为主, *INH* 较高程度的表达可抑制转化酶活性,从而保证蔗糖在一定程度上可不被降解,从而有利于有机物的吸收,并迅速形成叶片自身的结构,而成为功能叶。同样是功能叶片,在衰老叶片中的 *INH* 表达相对更弱。这

‘桃太郎’	CCCCGCTGATTA . TCTAGTAGAGACA . CATGCCAAG . AACACACCAAATTTATAATTTGCTGTGCAAAAACCTT	67
醋栗番茄	GACATGGTAATA . TCTAGTAGAGACA . CATGCCAAG . AACACACCAAATTTATAATTTGCTGTGCAAAAACCTT	70
潘那利番茄	GCTTATGTTATA . TCTAGTAGAGACA . CATGCCAAG . AACACACCAAATTTATAATTTGCTGTGCAAAAACCTT	67
AJ010943	GTGGGAATAATCTAGTAGAGACACATGCCAAG . AACACACCAAATTTATAATTTGCTGTGCAAAAACCTT	158
Y12805	ACGCCAATAAT . . . CTAGTAGAACTACATGCCAAA . AACACACCAAATTTACCAACTTTGCTGTGCAAAAACCTT	167
Y12806	ACAACAGTAATAATCATCAACACGACCGCAG . GCCACCAAAAATACCCCTTTGCTGTGCAAAAACCTT	223
AF459079	GTCATGATAATCTTGTACTCCCTGAAGTTTATGACCAAGATGGCAA TCCGCTGAGGATGCTGAGAGGTA	167
Y12807	AACACAACAACA . . . ATATTCGAATCAACTGCCAAA . ACCACAACCTACTACAAATTCGCTCTCCGCTC	160
‘桃太郎’	TGCTTTTACACAAAAGAAGTGA AAAAGCCAGGAG . . . . . ATATTTACAACATAGCATTAATTTATGGTTGA	131
醋栗番茄	TGCTTTTACACAAAAGAAGTGA AAAAGCCAGGAG . . . . . ATATTTACAACATAGCATTAATTTATGGTTGA	134
潘那利番茄	TCTCTTTTACACAAAAGAAGTGA AAAAGCCAGGAG . . . . . ATATTTACAACATAGCATTAATTTATGGTTGA	131
AJ010943	TGCTTTTACACAAAAGAAGTGA AAAAGCCAGGAG . . . . . ATATTTACAACATAGCATTAATTTATGGTTGA	222
Y12805	TGCTTTTCCGACAAAAGGAGTGC . . . . . CAGGGG . . . . . ATATTTACAACATAGCATTAATTTATGGTTGA	228
Y12806	TCCACTCTGATCCCGCTACCTCCGAGCCGAGGGGGCGACCTCAACAACCTCCGCCCTCCATGCTGAC	293
AF459079	CATTATTAAGAACTCCTCTCCTCGGGCCGAGCCGATATACTTGGACAAATATGGCAAACTTCAATGCCCA	237
Y12807	TCAAATCCGACCCAGAAAGTCCC . . . . . CAGCCG . . . . . ACAACAAGGTCCTCCCTCCATATGGTTGG	221
‘桃太郎’	TGCTATTAATCTTAAGCTTATCAAGCTGCTAATCTAATTT . . . . . AAAAATTAGGCATTTCTAATCTCTC	199
醋栗番茄	TGCTATTAATCTTAAGCTTATCAAGCTGCTAATCTAATTT . . . . . AAAAATTAGGCATTTCTAATCTCTC	202
潘那利番茄	TGCTATTAATCTTAAGCTTATCAAGCTGCTAATCTAATTT . . . . . AAAAATTAGGCATTTCTAATCTCTC	199
AJ010943	TGCTATTAATCTTAAGCTTATCAAGCTGCTAATCTAATTT . . . . . AAAAATTAGGCATTTCTAATCTCTC	290
Y12805	TGCAATAAAAGCTTAAGCTTATCAAGCTGCTAATCTAATTT . . . . . GAAACTCCGGCATTTGAAATCCCGCTG	296
Y12806	TGCGGTAAAAATTAAGCTTATCAAGCTGCTAATCTAATTT . . . . . GAAACTCCGGCATTTGAAATCCCGCTG	357
AF459079	AAC . GCCCTGTTACAGCACATGTCGATTTCCCAATTTTGGGAAAAGGACCCCGTTCATGTTCTTTCT	306
Y12807	CGTTGGTTTGACAAACGCCCTCCACCGCAAATTACATCGTTGGAAAACCTATCCGCCACCGTAAAGAC	291
‘桃太郎’	AA . GCTTGGAAAGATCCTTTGAAGAATTGTCGCTTTTCCGATAAAGSTAATTTTAAACAGCAAGTATGCCAG	268
醋栗番茄	AA . GCTTGGAAAGATCCTTTGAAGAATTGTCGCTTTTCCGATAAAGSTAATTTTAAACAGCAAGTATGCCAG	271
潘那利番茄	AA . GCTTGGAAAGATCCTTTGAAGAATTGTCGCTTTTCCGATAAAGSTAATTTTAAACAGCAAGTATGCCAG	268
AJ010943	AA . GCTTGGAAAGATCCTTTGAAGAATTGTCGCTTTTCCGATAAAGSTAATTTTAAACAGCAAGTATGCCAG	359
Y12805	CA . GCTTGGAAAGATCCTTTGAAGAATTGTCGCTTTTCCGATAAAGSTAATTTTAAACAGCAAGTATGCCAG	365
Y12806	. . . GAGTTGAGACTACCTCTTACCCAAATGTTAATAGTGTATTTCTGCTTCTACATCTGATCTAACTG	424
AF459079	A . . . ACTTCGAGTCCGATGATGGTGTCTGCTGCTTAAATGACTCTCTTTTATAATCAAGTCTTTCTTAA	374
Y12807	ACCTTCTCTAAAAGGTCCTTACAGATTGCTCTCGAGAAGTAT . . . . . GCTCTCCGCCCTTATTTCTCTCCGGC	358
‘桃太郎’	AA . . . . . CCAATAGAAGCATTAACAAAAGGTGATCCAAAATTTGCGAGAAGATGGAATGGTTGGTTCTTCTGCT	336
醋栗番茄	AA . . . . . CCAATAGAAGCATTAACAAAAGGTGATCCAAAATTTGCGAGAAGATGGAATGGTTGGTTCTTCTGCT	339
潘那利番茄	AA . . . . . CCAATAGAAGCATTAACAAAAGGTGATCCAAAATTTGCGAGAAGATGGAATGGTTGGTTCTTCTGCT	336
AJ010943	AA . . . . . CCAATAGAAGCATTAACAAAAGGTGATCCAAAATTTGCGAGAAGATGGAATGGTTGGTTCTTCTGCT	427
Y12805	AA . . . . . CCAATAGAAGCATTAACAAAAGGTGATCCAAAATTTGCGAGAAGATGGAATGGTTGGTTCTTCTGCT	433
Y12806	TT . . . . . GCTCTTGAAGCTTTAAAAGGAGGACTCCCTAATTTGCTGAAAATGGAATGGTTGATTTGCTGTA	492
AF459079	AA . . . . . CCAATAGAAGCATTAACAAAAGGTGATCCAAAATTTGCGAGAAGATGGAATGGTTGGTTCTTCTGCT	441
Y12807	TG . . . . . ACGATTCAGATCTTGATGATTAACCTTTATGACTATGCTCC . . . . . ATGCATGTTGTCGGCCGAGCA	425
‘桃太郎’	GATGCACAGAAATGTGAAGAATATTTTAAAGCTACAACCTATTAAT . . . . . ATTCACCACCTTCTAAATTTAAA	404
醋栗番茄	GATGCACAGAAATGTGAAGAATATTTTAAAGCTACAACCTATTAAT . . . . . ATTCACCACCTTCTAAATTTAAA	407
潘那利番茄	GATGCACAGAAATGTGAAGAATATTTTAAAGCTACAACCTATTAAT . . . . . ATTCACCACCTTCTAAATTTAAA	404
AJ010943	GATGCACAGAAATGTGAAGAATATTTTAAAGCTACAACCTATTAAT . . . . . ATTCACCACCTTCTAAATTTAAA	495
Y12805	GATGCACAGAAATGTGAAGAATATTTTAAAGCTACAACCTATTAAT . . . . . ATTCACCACCTTCTAAATTTAAA	492
Y12806	GAAACAGAACTTTGTGAGTTAGTTTAAAGTAAATGG . . . . . ATTTGG . . . . . TTCTCCAGTTTCTGATTTGAA	557
AF459079	AA . . . . . CCAATAGAAGCATTAACAAAAGGTGATCCAAAATTTGCGAGAAGATGGAATGGTTGGTTCTTCTGCT	514
Y12807	TTATCTTAAATTTGCGGAAATATTTTACCCGGGTTA . . . . . AAGG . . . . . GTTGGTTTCCCGGTGAGATT	489
‘桃太郎’	TATAGATCTTTCATGAACTTTCTGATGTTGCTAGAG . . . . . ATTTGTTAAGCAATCCA .	456
醋栗番茄	TATAGATCTTTCATGAACTTTCTGATGTTGCTAGAG . . . . . CCATTCGTAACAA	454
潘那利番茄	TATAGATCTTTCATGAACTTTCTGATGTTGCTAGAG . . . . . ATTTGTTAAGCA	452
AJ010943	TATAGATCTTTCATGAACTTTCTGATGTTGCTAGAG . . . . . CCATTCGTAACAAATTTAT	548
Y12805	TATAGATCTTTCATGAACTTTCTGATGTTGCTAGAG . . . . . CTATTCGTAACAAATTTAT	545
Y12806	TAAGGAGATTTATGAACTGCTTCTCTGCTTAAAT . . . . . CTATTAATTAAGTCTAT	610
AF459079	TATACAACTTACTGCAATTTGCTCTCTCATCTTCAATGCAAAAATATCCGCAACTTTTA	574
Y12807	CGCCGGCTTGAAGCTACTTCTGAGACCTATTGTTGTT . . . . . GTTGTCTCCGGATTCTT	543

图3 番茄与其它植物 INH cDNA 部分序列的同源性比较

Fig.3 Homology comparison of INH cDNA sequences in tomato and other plants

GenBank 登录号分别为 AJ010943 (番茄)、Y12805 (烟草细胞壁)、Y12806 (烟草液泡)、AF459079 (马铃薯)和 Y12807 (拟南芥)。

可能是因为幼嫩的功能叶片利用本身合成的蔗糖运输, 所以 INH 有较高水平的表达, 而在叶片后期老

化过程中, 则快速降解叶片本身合成的物质。从现蕾到花后 3 d (花前 12 d~花后 3 d), 子房中 INH 的

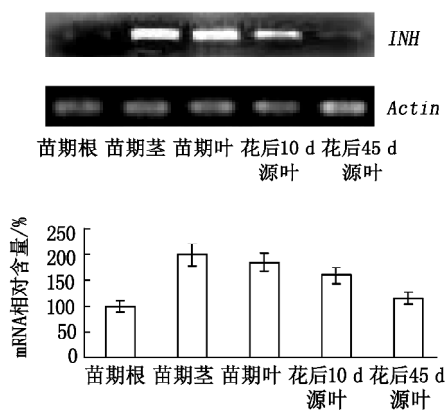


图4 半定量RT-PCR分析 *INH* 基因在番茄根、茎和叶中的转录

Fig.4 Semi-quantitative RT-PCR analysis of *INH* genes transcript in roots, stems, leaves of tomato

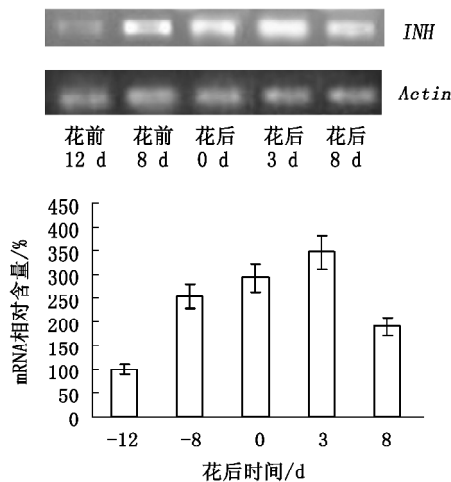


图5 半定量RT-PCR分析 *INH* 基因在番茄子房中的转录  
Fig.5 Semi-quantitative RT-PCR analysis of *INH* genes transcript in ovaries of tomato

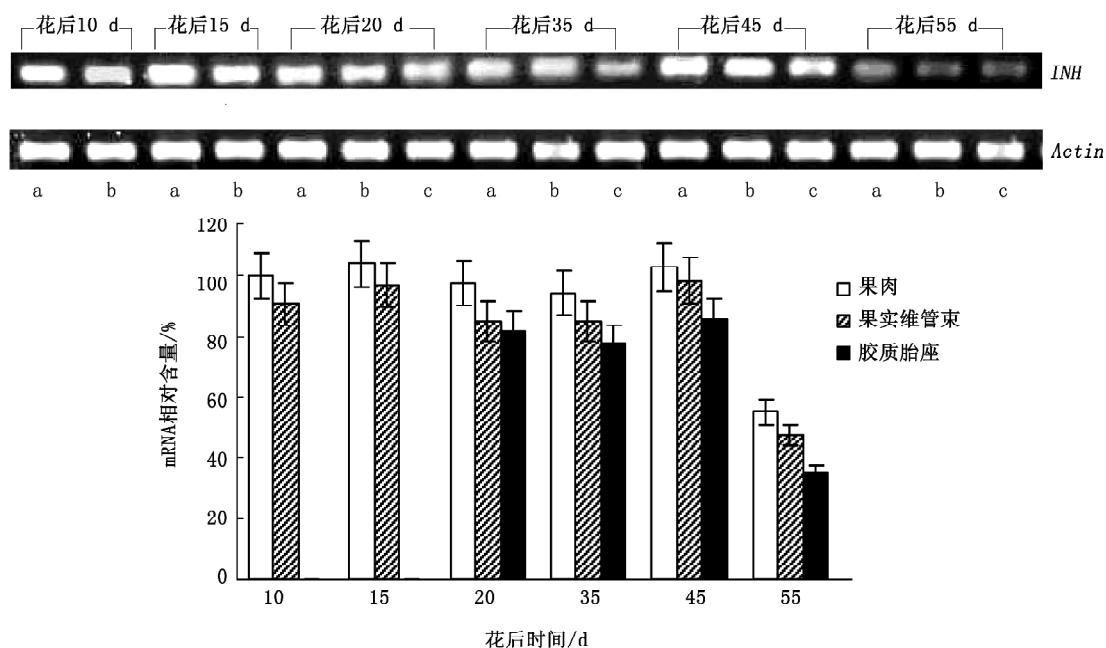


图6 半定量RT-PCR分析 *INH* 基因在番茄果实发育过程中不同部位的转录

Fig.6 Semi-quantitative RT-PCR analysis of *INH* gene transcripts in different parts of tomato fruits during development stage  
a: 果肉; b: 果实维管束; c: 胶质胎座。

表达逐渐增强, 芽体得到更多的蔗糖供给, 花芽分化受到促进, 于是成花率提高。而开花授粉后, 高水平的蔗糖含量是保证子房细胞分裂数增加的物质基础。之后, 花瓣凋谢, 子房膨大, 子房中 *INH* 表达迅速下降, 与其相关的生理机制之所以还不清楚, 推测可能与果实发育有密切联系。至于转化酶抑制子基因在番茄植株生长尤其是在果实发育过程中的调控作用及其功能, 尚需用转基因技术加以研究。

### 参考文献

成善汉, 宋波涛, 谢从华, 李竟才, 柳俊(2007). 烟草液泡转化酶抑制子基因调控马铃薯块茎低温还原糖累积的研究. 中国农业科学, 40 (1): 140~146  
 孙威, 姜晶(2008). 植物转化酶蛋白抑制子研究进展. 北方园艺, (2): 52~54  
 刘以前, 沈火林, 石正强(2006). 番茄果实生长发育过程中糖的代谢. 华北农学报, 21 (3): 51~56  
 齐红岩, 李天来, 刘海涛, 张洁(2005). 番茄不同部位中糖含量和相关酶活性的研究. 园艺学报, 32 (2): 239~243

- Bate NJ, Niu X, Wang Y, Reimann KS, Helentjaris TG (2004). An invertase inhibitor from maize localizes to the embryo surrounding region during early kernel development. *Plant Physiol*, 134: 246~254
- Bracho GE, Whitaker JR (1990). Purification and partial characterization of potato (*Solanum tuberosum*) invertase and its endogenous proteinaceous inhibitor. *Plant Physiol*, 92: 386~394
- Fridman E, Zamir D (2003). Functional divergence of a syntenic invertase gene family in tomato, potato, and *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 131: 603~609
- Greiner S, Krausgrill S, Rausch T (1998). Cloning of a tobacco apoplasmic invertase inhibitor. Proof of function of the recombinant protein and expression analysis during plant development. *Plant Physiol*, 116: 733~742
- Greiner S, Rausch T, Sonnewald U, Herbers K (1999). Ectopic expression of a tobacco invertase inhibitor homolog prevents cold-induced sweetening of potato tubers. *Nat Biotech*, 17: 708~711
- Haruki Y (2002). Chaperone-like functions of *N*-glycans in the formation and stabilization of protein conformation. *Trends Glycosci Glycotech*, 14: 139~151
- Pressey R (1994). Invertase inhibitor in tomato fruit. *Phytochemistry*, 36: 543~546
- Rausch T, Greiner S (2004). Plant protein inhibitors of invertases. *Biochim Biophys Acta*, 1696: 253~261
- Rolland F, Moore B, Sheen J (2002). Sugar sensing and signaling in plants. *Plant Cell*, 14: s185~s205
- Sander A, Krausgrill S, Greiner S, Weil M, Rausch T (1996). Sucrose protects cell wall invertase but not vacuolar invertase against proteinaceous inhibitors. *FEBS Lett*, 385: 171~175
- Smeekens S (2000). Sugar-induced signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 51: 49~81
- Vukov K, Hangyal K (1985). Sugar beet storage. *Sugar Technol Rev*, 12: 143~265
- Zrenner R, Schiiler K, Sonnewald U (1996). Soluble acid invertase determines the hexose-to-sucrose ratio in cold-stored potato tubers. *Planta*, 198: 246~252