

毛白杨纤维素合酶基因家族部分成员的克隆及表达^{*}

陈亚娟 王宏芝 李瑞芬 张中保 崔莉洁 魏建华

(北京市农林科学院 北京农业生物技术研究中心 北京 100097)

摘 要: 从毛白杨中分离7个纤维素合酶基因,分别为 *PtoCesA4*, *PtoCesA5*, *PtoCesA7*, *PtoCesA8*, *PtoCesA13*, *PtoCesA17* 和 *PtoCesA18*,通过与已公布的毛果杨全基因序列及拟南芥和水稻基因组中纤维素合酶基因序列的同源性比对分析,结合目前纤维素合成机制的研究进展,预测毛白杨中上述不同纤维素合酶的功能。利用 GenomeLab™ GeXP 遗传分析系统分析毛白杨中纤维素合酶基因在不同组织中的转录表达水平,结果表明 *PtoCesA4*, *PtoCesA7*, *PtoCesA8*, *PtoCesA17* 和 *PtoCesA18* 在木质部高丰度表达,推测这些基因可能参与毛白杨次生细胞壁的形成,为毛白杨次生细胞壁中纤维素的合成调控提供参考依据。

关键词: 毛白杨; 纤维素合酶; GeXP; 基因表达

中图分类号: S718.46; Q943.2 文献标识码: A 文章编号: 1001-7488(2011)10-0070-06

Isolation and Expression Profile of Some Members of Cellulose Synthase Gene Family in *Populus tomentosa*

Chen Yajuan Wang Hongzhi Li Ruifen Zhang Zhongbao Cui Lijie Wei Jianhua

(Beijing Agro-Biotechnology Research Center Beijing Academy of Agricultural and Forestry Science Beijing 100097)

Abstract: Wood is an attractive renewable source of lignocellulosic biomass for biofuels production and pulping industry. One of the principal components of wood is cellulose, determining the morphology of plants and wood quality. In this study, we isolate seven cellulose synthase genes: *PtoCesA4*, *PtoCesA5*, *PtoCesA7*, *PtoCesA8*, *PtoCesA13*, *PtoCesA17* and *PtoCesA18* from *Populus tomentosa* by using RT-PCR and bioinformatics methods. A phylogenetic tree of *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa*, *Populus trichocarpa* and *P. tomentosa* cellulose synthase gene superfamilies was constructed using the MEGA4.0 program. GenomeLab™ GeXP genetic analysis showed that the transcription levels of *PtoCesA17* and *PtoCesA7* along with *PtoCesA4*, *PtoCesA8* and *PtoCesA18* were much higher in xylem than that in leaves in *P. tomentosa*, implying that these genes may function on secondary wall formation.

Key words: *Populus tomentosa*; cellulose synthase; GeXP; gene expression

纤维素是木材的主要组分,是地球上最丰富的重要可再生资源,自然界每年可生产约1 800亿t的纤维素。在生物能源和制浆造纸工业中,纤维素的含量和存在形式直接影响发酵产物液体乙醇的产率和制浆造纸过程中纸浆得率(Chiang *et al.*, 1988; Sassner *et al.*, 2005)。因此,深入研究林木植物中纤维素的生物合成过程,挖掘控制木材纤维品质和产量的重要基因,进而通过遗传操作改良植物的纤维品质具有重要的理论和实践意义。

在高等植物中,纤维素合酶(cellulose synthase, CesA)催化纤维素的合成(Chandrashekhara *et al.*, 2007)。纤维素合酶在细胞膜上组装成纤维素合酶复合体(cellulose synthase complexes, CSCs),它由6个大

亚基组成,在细胞膜上呈六边玫瑰形,推测每个大亚基可能包含6个CesA蛋白(Doblin *et al.*, 2002; Somerville, 2006; Mutwil *et al.*, 2008)。目前研究表明,植物初生、次生细胞壁的形成涉及不同的纤维素合酶(Saxena *et al.*, 2000; Haigler *et al.*, 2001; Desprez *et al.*, 2007; Atanassov *et al.*, 2009)。拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中, *CesA1*, *CesA3* 和 *CesA6* 形成的复合体参与初生壁纤维素合成(Wang *et al.*, 2008),而 *CesA4*, *CesA7* 和 *CesA8* 参与次生壁纤维素的合成(Atanassov *et al.*, 2009)。

林木植物的次生细胞壁形成远比拟南芥复杂,已有研究对林木中一些参与细胞壁形成的纤维素合酶编码基因进行了表达分析和功能验证。杨树

收稿日期: 2011-01-06; 修回日期: 2011-04-25。

基金项目: 国家林业局948项目(2008-4-26); 国家高技术研究发展计划(2009AA10Z101)。

^{*} 魏建华为通讯作者。

(*Populus*)全基因组测序的完成促进了杨树中参与细胞壁合成的纤维素合酶基因的研究。通过序列分析,在毛果杨(*P. trichocarpa*)基因组中已发现 18 个 *CesA* 基因 (Soraya *et al.*, 2005), 其中 *PtCesA4*, *PtCesA5*, *PtCesA7*, *PtCesA8*, *PtCesA17* 和 *PtCesA18* 在木质部特异高表达 (Suzuki *et al.*, 2006)。最近, Song 等 (2010) 发现, 杨树木质部细胞膜上至少存在 2 种纤维素合酶复合体, 复合体 I 由 *CesA4*, *CesA7*, *CesA8*, *CesA17* 和 *CesA18* 组成, 参与细胞次生壁的合成; 复合体 II 由 *CesA3*, *CesA10*, *CesA11*, *CesA13*, *CesA15* 和 *CesA16* 组成, 参与细胞初生壁和次生壁的合成。然而, 纤维素合酶在杨树次生细胞壁形成中的功能鉴定还需要深入研究。

杨树是林木分子生物学的模式植物, 也是北半球重要的用材树种。揭示杨树中纤维素合酶基因及其功能, 尤其是参与次生细胞壁形成的纤维素合酶基因, 对于利用现代分子生物学手段改良毛白杨 (*P. tomentosa*) 木材品质具有重要的现实意义。毛白杨是我国特有乡土树种, 在材性品质和生态适应性上具有明显优势, 是优良的纸浆材树种和潜在的生物质能源树种。塔形毛白杨 CV-BJHR01 (*P. tomentosa* ‘BJHR01’) (审定编号: 国 S - SC - PT - 001 - 2006) 新品系是经过人工杂交和多年选择而培育出的杨树新品种。该品系杨树具有生长快、抗性强、树冠狭窄、雄株或弱雌性等优良特性, 是城市绿化、农田防护和短周期工业用材林的优良品种。本研究从塔形毛白杨 CV-BJHR01 中克隆了 7 个纤维素合酶基因, 结合生物信息学分析初步预测了其功能; 运用 GeXP 系统研究了这些纤维素合酶基因的组织特异性表达模式, 为揭示这些基因的生物功能提供了实验数据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

塔形毛白杨 CV-BJHR01, 温室培养 3 个月, 培养温度为 (25 ± 2) °C, 光照时间为 16 h · d⁻¹, 光照强度为 40 ~ 45 μmol · m⁻² · s⁻¹。

1.2 试验方法

1.2.1 RNA 的提取 使用柱式植物 RNA_{out} 2.0 试剂盒 (天恩泽) 提取毛白杨叶片 (6—8 节间幼嫩叶片) 和次生木质部 (1—3 节间) 总 RNA。由于 RNA 容易降解, 取材过程要迅速, 剥去树皮后, 用灭菌刀片刮取树干和树皮内侧的材料, 放入液氮速冻过的离心管, 马上投入液氮中。具体总 RNA 提取过程按照试剂盒说明书进行。

1.2.2 基因克隆 根据已发表的毛果杨纤维素合酶基因全序列, 在基因 3' UTR 和 5' UTR 区设计引物, 采用巢式 PCR 的方法扩增毛白杨纤维素合酶基因, 引物序列见表 1。cDNA 的合成使用 Invitrogen 公司的 SuperScript III First-Strand Synthesis System 试剂盒, 具体操作按照试剂盒说明书进行。PCR 扩增产物纯化后克隆到 pGEM-T Easy (Promega) 载体上, 进行测序分析。

表 1 纤维素合酶基因克隆引物
Tab. 1 Primers for cloning cellulose synthase genes

引物名称 Primer name	引物序列 (5'—3') Sequences of the primers (5'—3')
PtCesA4-AF	CGGGAATTCGATTGTTGTCC
PtCesA4-AR	TGACCACTCCACTCCCCATT
PtCesA4-BF	ATGGCTGGCCTTGTCACGGGCAGTT
PtCesA4-BR	CTAGCACTCCACTCCACATTGTTTGA
PtCesA5-AF	ATGGAGACCAAGGGAGACT
PtCesA5-AR	AACCTTCTACGTCATGTGTCTT
PtCesA5-BF	GTGATGAGGGACAGAAACAG
PtCesA5-BR	GCTTATGTCGAAGGGAGGAT
PtCesA7-AF	CATGGAAGCCACTGCTGGA
PtCesA7-AR	GGGCATCTCCATTTTGTCCG
PtCesA7-BF	CTCTCGCCCTTTTCCATT
PtCesA7-BR	AACTGGGTCAATGCTCGT
PtCesA8-AF	GAGCYGGTRAAGTGCTAAT
PtCesA8-AR	GAGAATCATCTC GCAGTTCATGT
PtCesA8-BF	AGACAACCAAGACACCTTAGCTT
PtCesA8-BR	GCTCACAGAAATGCTCAGACCTT
PtCesA13-AF	ATGGAATCAGAAGGTGAAA
PtCesA13-AR	TGAGAATTACATAACCCACC
PtCesA13-BF	AGAGCAGCTATCGATGGAAT
PtCesA13-BR	AACCCACCTCCTTACATT
PtCesA17-AF	CATGGAAGCTAGTGTGGAC
PtCesA17-AR	CGCATATCGTATTCCCTTAGA
PtCesA17-BF	GCTCTCTCAGCCCATTCAT
PtCesA17-BR	CCTTCTGCATCTCCATCTTGT
PtCesA18-AF	GGCTTTGTTCACTTCTGCTCT
PtCesA18-AR	GACCTATGTCTTTGCTGCTGT
PtCesA18-BF	AGACACCCTAGCTTTGGTT
PtCesA18-BR	CTGGGAGAGACTTATTGGAGGT

1.2.3 生物信息学分析 DNA 序列利用 DNAMAN 软件进行组装和分析; 数据库搜索利用 NCBI BLAST 搜索程序 (Altschul *et al.*, 1990); 采用 Clustal W (Thompson *et al.*, 1994) 进行多序列比对; 使用 Mega4.0 软件 (Tamura *et al.*, 2007) 对 10 个拟南芥 *CesA* 基因、11 个水稻 (*Oryza sativa*) *CesA* 基因、18 个毛果杨 *CesA* 基因和 7 个完整的毛白杨 *CesA* 基因构建 NJ (Neighbor-Joining Method, 邻接法) 系统发育树。拟南芥基因的数据来自 NCBI, 水稻基因数据来自水稻基因组计划注释数据库 (<http://rice.plantbiology.msu.edu>), 毛果杨基因序列来自毛果杨基因组文库 (http://genome.jgi-psf.org/Poptr1_1/)。

1.2.4 基于 GeXP 遗传分析系统的基因表达分析 引物设计选择在基因序列的非保守区, 引物序列见表 2。

毛白杨叶片和次生木质部总 RNA 的提取方法同上。使用 GenomeLab GeXP Start Kit(Beckman Coulter)试剂盒进行反转录(RT)及多重 PCR(XP-PCR)反应。以 *Actin* 基因的表达水平作为对照,同时设无模板质控(NTC)和无反转录酶质控(NRTC)对照。

表 2 纤维素合酶基因 GeXP 遗传分析引物^①

Tab. 2 Primers for GenomeLab™ GeXP genetic analysis of cellulose synthase genes

引物名称 Primer name	引物序列(5'—3') Sequences of the primers(5'—3')
actin-5	AGGTGACACTATAGAATAATGCTCCAGGGCAGTGT
actin-3	GTACGACTCACTATAGGGATCCAACCATGACACCAGTGTGT
1AF	AGGTGACACTATAGAATAATGTCATGCCATCTCTCTCA
1AR	GTACGACTCACTATAGGGATCCTTCACTGTGCTACCAA
2AF	AGGTGACACTATAGAATAAGACAAAAGACACCCCTGA
2AR	GTACGACTCACTATAGGGATGCGAAAGTCAGTCTGTGT
3AF	AGGTGACACTATAGAATATTTGCTGGTGAACAAAA
3AR	GTACGACTCACTATAGGGAGGAGCTTCTGCTAGTCTGATT
4BF	AGGTGACACTATAGAATATGCAGATGGCAAGAGAGGGT
4BR	GTACGACTCACTATAGGGACCATAGTGGTTGCTGCGCTT
5AF	AGGTGACACTATAGAATACGTTTACGAGTGCATAAGCG
5AR	GTACGACTCACTATAGGGACCCACTACAATTTCATTCCA
6AF	AGGTGACACTATAGAATACGTGCCCTGAGTGGTATTTT
6AR	GTACGACTCACTATAGGGAGTGTGTGGAACCAACCCAT
7BF	AGGTGACACTATAGAATAAGGTGGAAGAGAGGATGCGATGAT
7BR	GTACGACTCACTATAGGGAATCTTGCTCGACCGAGTTGTTACTT
8BF	AGGTGACACTATAGAATATCCTTGGAAACACCGGAGCT
8BR	GTACGACTCACTATAGGGAACCGGCTTCTTGTGTTGTT
9AF	AGGTGACACTATAGAATAATGATTCTGGAGCCAAAGAGG
9AR	GTACGACTCACTATAGGGACTTCCCCACACCCAAAAGTA
10AF	AGGTGACACTATAGAATAGCTGAAGGAGAGGACACAT
10AR	GTACGACTCACTATAGGGACAAAACGCACACAATGCGC
14BF	AGGTGACACTATAGAATAAGCGGAAGAAATGGGAGATGCT
14BR	GTACGACTCACTATAGGGAACCCAAACCCAGCATACTGTTCT
15AF	AGGTGACACTATAGAATACTTAAGTGGTGTCTGTGGATGCT
15AR	GTACGACTCACTATAGGGAGCACCCACAGTTCAATGTCTT
16AF	AGGTGACACTATAGAATACCTAAGTGGTGTCTGTGGATGCT
16AR	GTACGACTCACTATAGGGAGTACCCACAGGTGCAAAATGTTCT
17DF	AGGTGACACTATAGAATACCACTGTATGTGGCACAGCAT
17DR	GTACGACTCACTATAGGGAGCAGTCCAGGTTTCCATCTTT
18DF	AGGTGACACTATAGAATACTTCCTTGGAAATACTGGAGCTCGT
18DR	GTACGACTCACTATAGGGAACCGCCTTTTGTGCTGCT

①引物加粗部分为标签序列。The bold part of the primer are the tag sequences.

2 结果与分析

2.1 毛白杨纤维素合酶基因的克隆及序列分析

以毛白杨次生木质部总 RNA 为模板,通过 RT-PCR 扩增纤维素合酶基因,获得大小约为 3 100 bp 的 DNA 片段(图 1)。获得的序列经分析均具有完

整的阅读框,包含部分 UTR 区序列。经 NCBI BLAST 数据库搜索,以及同毛果杨和拟南芥纤维素合酶基因家族比对,分别命名为 *PtoCesA4*, *PtoCesA5*, *PtoCesA7*, *PtoCesA8*, *PtoCesA13*, *PtoCesA17* 和 *PtoCesA18*, 基因命名(表 3)参考 Kumar 等(2009)。DNAMAN 分析表明,克隆的毛白杨纤维素合酶基因与毛果杨基因组文库登记的同源基因在氨基酸水平上的一致性为 94%~98%(表 3)。

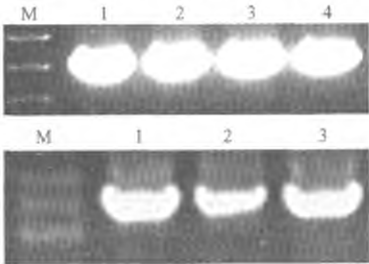


图 1 纤维素合酶基因扩增结果

Fig. 1 Products of *CesA* amplification

a. M: DNA 分子量标准 DNA marker III; 1-4: *CesA5*, *CesA7*, *CesA13*, *CesA17* 基因巢式扩增结果 Nested PCR products of *CesA5*, *CesA7*, *CesA13*, *CesA17* respectively.
b. M: DNA 分子量标准 DNA marker III; 1-3: *CesA4*, *CesA8*, *CesA18* 基因巢式扩增结果 Nested PCR products of *CesA4*, *CesA8*, *CesA18* respectively.

表 3 毛白杨纤维素合酶基因特性

Tab. 3 Characteristics of *CesAs* in *Populus tomentosa*

基因命名 Gene nomenclature	cDNA 总长 Length of cDNA/bp	编码氨基酸数目(个) Number of amino acids	与毛果杨同源基因一致性 Identity with the homologous genes of <i>Populus trichocarpa</i> (%)	GenBank 注册号 Accession No.
<i>PtoCesA4</i>	3 253	1 042	98	HQ585869
<i>PtoCesA5</i>	3 323	1 095	98	HQ585873
<i>PtoCesA7</i>	3 218	1 036	97	HQ585870
<i>PtoCesA8</i>	3 267	978	98	HQ585867
<i>PtoCesA13</i>	3 315	1 079	98	HQ585872
<i>PtoCesA17</i>	3 185	1 032	98	HQ585871
<i>PtoCesA18</i>	3 091	978	94	HQ585868

使用 Mega4.0 软件建立系统进化树(图 2)。从进化树上可以看出,毛白杨 *PtoCesA13* 与拟南芥 *AtCesA3* 属于同一亚族,毛白杨 *PtoCesA5* 与拟南芥 *AtCesA2*, *AtCesA5*, *AtCesA6* 及 *AtCesA9* 属于同一亚族。拟南芥研究表明, *AtCesA1*, *AtCesA3* 和 *AtCesA6* 组成纤维素合酶复合体,参与初生细胞壁合成;同时 *AtCesA2*, *AtCesA5* 和 *AtCesA9* 被认为是 *AtCesA6* 的替代物,这些蛋白彼此之间存在功能冗余(Persson *et al.*, 2005; Sonia *et al.*, 2006; Desprez *et al.*, 2007)。由此推测毛白杨 *PtoCesA5* 和 *PtoCesA13* 在初生壁形成中发挥作用。

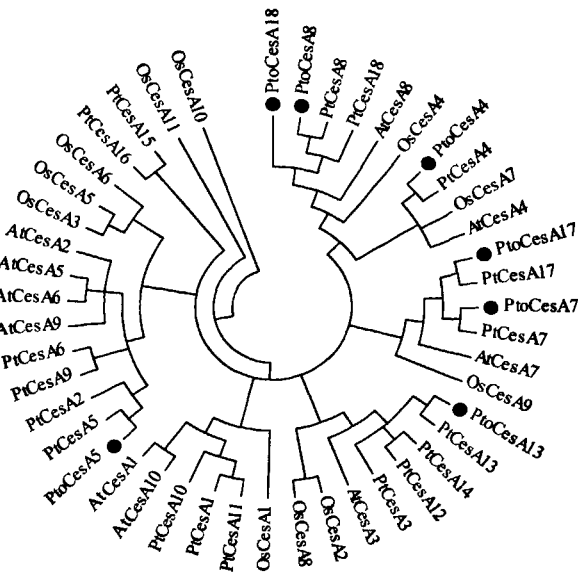


图 2 拟南芥、水稻、毛果杨和毛白杨纤维素合酶构建的邻接树

Fig. 2 The neighbor-joining tree of *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa*, *Populus trichocarpa* and *P. tomentosa* CesAs proteins

拟南芥数据来自 NCBI Data of *Arabidopsis thaliana* was from NCBI; AtCesA1 (AF027172); AtCesA2 (AF027173); AtCesA3 (AF027174); AtCesA4 (AF458083); AtCesA5 (NM-121024); AtCesA6 (NM-125870); AtCesA7 (AF088917); AtCesA8 (AF267742); AtCesA9 (NM-127746); AtCesA10 (NM-128111).

水稻数据来自 RGAP Data of *Oryza sativa* was from Rice Genome Annotation Project; OsCesA1 (LOC_Os05g08370); OsCesA2 (LOC_Os03g59340); OsCesA3 (LOC_Os07g24190); OsCesA4 (LOC_Os01g54620); OsCesA5 (LOC_Os03g62090); OsCesA6 (LOC_Os07g14850); OsCesA7 (LOC_Os10g32980); OsCesA8 (LOC_Os07g10770); OsCesA9 (LOC_Os09g25490); OsCesA10 (LOC_Os12g29300); OsCesA11 (LOC_Os06g39970).

毛果杨数据来自毛果杨基因组文库 Data of *populus trichocarpa* was from *Populus trichocarpa* genome database; PtCesA1 (582479); PtCesA2 (551308); PtCesA3 (691465); PtCesA4 (691997); PtCesA5 (714760); PtCesA6 (71761); PtCesA7 (717646); PtCesA8 (568682); PtCesA9 (695949); PtCesA10 (702007); PtCesA11 (344723); PtCesA12 (560520); PtCesA13 (697507); PtCesA14 (576348); PtCesA15 (56570); PtCesA16 (97727); PtCesA17 (578717); PtCesA18 (555650).

毛白杨 PtoCesA4 与 PtCesA4, AtCesA4 和 OsCesA7 属于同一个亚族; PtoCesA7 和 PtoCesA17 与 PtCesA7, PtCesA17, AtCesA7 和 OsCesA9 属于同一亚族; PtoCesA8 和 PtoCesA18 与 PtCesA8, PtCesA18, AtCesA8 和 OsCesA4 属于同一个亚族。研究表明 AtCesA4, AtCesA7 和 AtCesA8 共同参与细胞次生壁的合成 (Turner *et al.*, 1997; Taylor *et al.*, 2003; Atanassov *et al.*, 2009)。OsCesA4, OsCesA7 和 OsCesA9 在功能上并不冗余,可能形成一个纤维

素合酶复合体参与次生细胞壁合成 (Tanaka *et al.*, 2003)。由此推测毛白杨 PtoCesA4, PtoCesA7/17 和 PtoCesA8/18 参与细胞次生壁的合成。

2.2 毛白杨纤维素合酶基因的表达分析

2.2.1 用于 GeXP 多重分析的基因引物有效性验证 采用 PCR 对设计的特定基因引物进行验证和优化,筛选出能够有效扩增的特异引物。PCR 产物经毛细管电泳分离,以检验特定引物扩增的有效性和扩增片段的大小。结果表明,本研究中最终选定的引物,对目标基因能进行有效特异性扩增,为基因的表达分析奠定了基础。尝试了多对不同引物, PtoCesA13 均没有得到有效扩增,可能是由于基因转录丰度没有达到系统可以检测的水平。

2.2.2 GeXP 系统分析杨树纤维素合酶基因的表达特性 为了鉴定在次生木质部特异表达的毛白杨纤维素合酶基因,利用 GeXP 系统分别分析了毛白杨叶片和次生木质部纤维素合酶基因的表达 (图 3, 图 4)。结果表明:毛白杨次生木质部和叶片纤维素合酶基因家族表达谱存在明显差异,其中 PtoCesA4, PtoCesA7, PtoCesA8, PtoCesA17 和 PtoCesA18 在茎次生木质部中的转录丰度较高 (图 4),说明这些基因可能主要参与毛白杨次生细胞壁的形成;而 PtoCesA5 在叶片中的转录丰度明显高于次生木质部 (图 4)。由于叶片中维管系统较少,推测 PtoCesA5 可能在初生壁合成中发挥作用。以上这些结果与生物信息学分析预测的基因功能相吻合。

3 结论与讨论

本研究利用 RT-PCR 的方法,从毛白杨中分离了纤维素合酶基因 PtoCesA4, PtoCesA5, PtoCesA7, PtoCesA8, PtoCesA13, PtoCesA17 和 PtoCesA18。通过与拟南芥、水稻以及毛果杨基因序列比对,推测毛白杨 PtoCesA5 和 PtoCesA13 参与毛白杨初生壁的形成, PtoCesA4, PtoCesA7, PtoCesA8, PtoCesA17 和 PtoCesA18 在毛白杨次生壁形成过程中发挥作用,这与 Suzuki 等 (2006) 和 Song 等 (2010) 在毛果杨中的研究结论相一致。然而,在 Suzuki 等 (2006) 的研究中,毛果杨 PtCesA4 转录表达水平最低, PtCesA18 最高;而在本试验中 PtoCesA4 的转录表达水平最高。Suzuki 等 (2006) 的研究显示木质部特异表达基因在其他组织中的表达量都非常低,而本研究通过 GeXP 系统分析其表达水平差异较小,如在木质部特异高水平表达的基因 PtoCesA4, PtoCesA7, PtoCesA17 等在叶片中的表达量也较高。以上差异

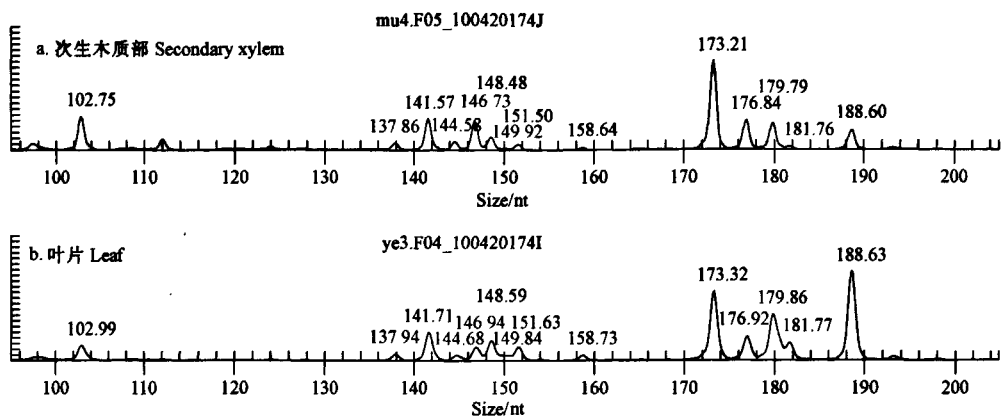


图 3 毛白杨次生木质部和叶片纤维素合酶基因家族表达谱的毛细管电泳
Fig.3 Representative capillary electropherograms corresponding to gene expression profiles of cellulose synthase from *Populus tomentosa* in secondary xylem and leaves

可能是由于本试验取材树龄小、木质部还没有充分木质化所致。引起这些差异的具体原因还有待进一步的研究。

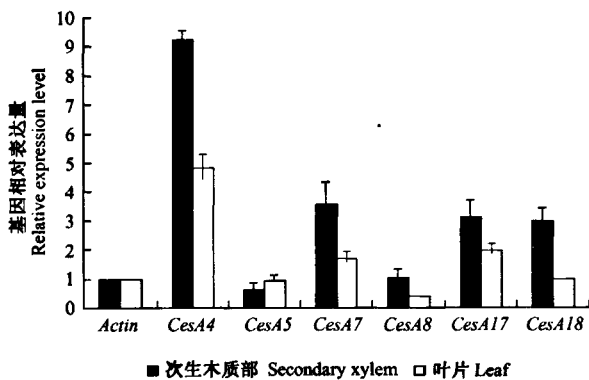


图 4 毛白杨次生木质部和叶片纤维素合酶转录丰度的比较

Fig.4 Expression levels of cellulose synthase genes from *Populus tomentosa* in secondary xylem and leaves

基因表达水平为相对值,对照 *Actin* 基因的表达水平定为 1,试验设 3 次重复。The expression levels of genes are compared with that of *Actin*, which is set to 1. Error bars represent the SE of three biological replicates.

Suzuki 等(2006)在毛果杨 4 种组织中均检测不到 *PtCesA3* 的表达,本试验在毛白杨叶片和次生木质部中均检测到了 *PtoCesA3* 基因的表达,但是表达量相对较低。*PtoCesA13* 在本试验中未能得到有效扩增。根据系统进化树分析,*PtoCesA13* 与 *AtCesA3*, *PtCesA13* 和 *PtCesA3* 进化上亲缘关系最近; Song 等(2010)的研究表明毛果杨中, *PtCesA3* 和 *PtCesA13* 既参与初生壁的合成也参与次生壁的合成, *AtCesA3* 参与了拟南芥初生细胞壁的形成。根据以上结果毛白杨 *PtoCesA3* 和 *PtoCesA13* 在细胞壁形成过程中的作用还有待于进一步的试验验证。

本研究克隆了毛白杨 7 个 *CesA* 基因,利用 GeXP 遗传分析系统对毛白杨纤维素合酶家族基因在不同部位的表达进行了研究,为进一步鉴定毛白杨纤维素合酶基因的功能提供了实验依据。本实验室选取了部分次生木质部高表达基因进行了进一步的过表达和抑制表达研究,目前已获得了一部分转基因株系,基因功能的验证还在进行中。

参 考 文 献

Altshul F, Gish W, Miller W, et al. 1990. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol*, 215(3): 403 - 410.

Atanassov H, Pittman J K, Turner S R. 2009. Elucidating the mechanisms of assembly and subunit interaction of the cellulose synthase complex of *Arabidopsis* secondary cell walls. *Journal of Biological Chemistry*, 284(6): 3833 - 3841.

Chandrashekar P J, Shawn D Mansfield. 2007. The cellulose paradox-simple molecule, complex biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(3): 220 - 226.

Chiang V L, Puumala R J, Takeuchi H. 1988. Comparison of softwood and hardwood kraft pulping. *Tappi J*, 71(9): 173 - 176.

Desprez T, Juraniec M, Crowell E F. 2007. Organization of cellulose synthase complexes involved in primary cell wall synthesis in *Arabidopsis thaliana*. *PNAS*, 104(39): 15572 - 15577.

Doblin M S, Kurek I, Jacob-Wilk D, et al. 2002. Cellulose biosynthesis in plants: from genes to rosettes. *Plant and Cell Physiology*, 43(12): 1407 - 1420.

Haigler C H, Datcheva I, Hogan P S, et al. 2001. Carbon partitioning to cellulose synthesis. *Plant Mol Biol*, 47(1/2): 29 - 51.

Kumar M, Thammannagowda S, Bulone V, et al. 2009. An update on the nomenclature for the cellulose synthase genes in *Populus*. *Trends in Plant Science*, 14(5): 248 - 254.

Mutwil M, Debolt S, Persson S. 2008. Cellulose synthesis: a complex complex. *Current Opinion in Plant Biology*, 11(3): 252 - 257.

Persson S, Wei H, Milne J, et al. 2005. Identification of genes required for cellulose synthesis by regression analysis of public microarray

- data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102(24): 8633 - 8638.
- Sassner P, Galbe M, Zacchi G. 2005. Steam pretreatment of *Salix* with and without SO₂ impregnation for production of bioethanol. *Appl Biochem Biotech*, 124: 1101 - 1118.
- Saxena I M, Brown R M Jr. 2000. Cellulose synthase and related enzymes. *Current Opinion in Plant Biology*, 3(6): 523 - 531.
- Somerville C. 2006. Cellulose synthesis in higher plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 22(1): 53 - 78.
- Song D L, Shen J H, Li L G. 2010. Characterization of cellulose synthase complexes in *Populus* xylem differentiation. *New Phytologist*, 187(3): 777 - 790.
- Sonia B, Christopher J B, Neil G, *et al.* 2006. Interactions between *MUR10/Ces7*-dependent secondary cellulose biosynthesis and primary cell wall structure. *Plant Physiology*, 142(4): 1353 - 1363.
- Soraya D, Mats L, Lars A, *et al.* 2005. The genome sequence of black cottonwood (*Populus trichocarpa*) reveals 18 conserved cellulose synthase (CesA) genes. *Planta*, 221(5): 739 - 746.
- Suzuki S, Li L G, Sun Y H, *et al.* 2006. The cellulose synthase gene superfamily and biochemical functions of xylem-specific cellulose synthase-like genes in *Populus trichocarpa*. *Plant Physiology*, 142(3): 1233 - 1245.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, *et al.* 2007. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 24(8): 1596 - 1599.
- Tanaka K, Murata K, Yamazaki M, *et al.* 2003. Three distinct rice cellulose synthase catalytic subunit genes required for cellulose synthesis in the secondary wall. *Plant Physiology*, 133(1): 73 - 83.
- Taylor N G, Howells R M, Huttly A K, *et al.* 2003. Interactions among three distinct CesA proteins essential for cellulose synthesis. *PNAS*, 100(3): 1450 - 1455.
- Thompson J D, Higgins D G, Gibson T J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*, 22(22): 4673 - 4680.
- Turner S R, Somerville C R. 1997. Collapsed xylem phenotype of *Arabidopsis* identifies mutants deficient in cellulose deposition in the secondary cell wall. *Plant Cell*, 9(5): 689 - 701.
- Wang J, Elliott J E, Williamson R E. 2008. Features of the primary wall CesA complex in wild type and cellulose-deficient mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, 59(10): 2627 - 2637.

(责任编辑 徐 红)

欢迎订阅 2012 年《林业调查规划》

《林业调查规划》1976 年创刊,是由云南省林业调查规划院和西南地区林业信息中心共同主办的国内外公开发行的林业科技期刊。被全国多家期刊数据库收录。为中国科技核心期刊、中国林业核心期刊、首届《CAJ-CD 规范》执行优秀期刊、云南省优秀期刊。本刊开辟了森林经理、“3S”技术、森林资源管理、生物多样性保护、森林经营、生态建设、自然保护区、森林保护、林火研究、营造林技术、生态旅游、林产业开发、专家论坛等栏目。本刊以技术性、实用性、创新性为原则,具有较强的指导性、知识性和可读性,是广大从事林业生产、科研、教学工作的科技工作者和领导不可或缺的参考资料。

本刊为双月刊,A4 开本,逢单月底出刊。国际刊号 ISSN 1671 - 3168,国内统一刊号 CN 53 - 1172/S。2012 年每期 130 页码,每期定价 15 元,全年 90 元;2012 年出版增刊 2 册,全年定价 40 元;共计 130 元(含邮费)。由编辑部自办发行,订阅单位或个人可通过邮局或银行汇款。欢迎广大林业科技人员踊跃投稿,展示才华,也欢迎社会各界刊登广告、展示形象。

邮局汇款地址:云南省昆明市盘龙区人民东路 289 号

云南省林业调查规划院《林业调查规划》编辑部

联系及收款人:邓砚

邮 编:650051

开户银行:昆明市农行双龙支行

帐 号:219201040001993

银行户名:云南省林业调查规划院

电 话:(0871)3318347;3332538

传 真:(0871)3318347

E-mail:ynfip@vip.163.com

http://lydcgh.periodicals.net.cn/

作者：陈亚娟，王宏芝，李瑞芬，张中保，崔莉洁，魏建华，Chen Yajuan，Wang Hongzhi，Li Ruifen，Zhang Zhongbao，Cui Lijie，Wei Jianhua
作者单位：北京市农林科学院北京农业生物技术研究中心 北京100097
刊名：林业科学ISTIC PKU
英文刊名：Scientia Silvae Sinicae
年，卷(期)：2011, 47(10)

参考文献(23条)

1. Altshul F;Gish W;Miller W Basic local alignment search tool 1990(03)

2. Atanassov H;Pittman J K;Turner S R Elucidating the mechanisms of assembly and subunit interaction of the cellulose synthase complex of Arabidopsis secondary cell walls 2009(06)

3. Joshi CP;Mansfield SD The cellulose paradox - simple molecule, complex biosynthesis[外文期刊] 2007(3)

4. Chiang V L;Puumala R J;Takeuchi H Comparison of softwood and hardwood kraft pulping 1988(09)

5. Desprez T;Juraniec M;Crowell EF;Jouy H;Pochylova Z;Parcy F;Hofte H;Gonneau M;Vernhettes S Organization of cellulose synthase complexes involved in primary cell wall synthesis in Arabidopsis thaliana[外文期刊] 2007(39)

6. Doblin MS;Kurek I;Jacob-Wilk D;Delmer DP Cellulose biosynthesis in plants: from genes to rosettes [Review][外文期刊] 2002(12)

7. Haigler C H;Datcheva I;Hogan P S Carbon partitioning to cellulose synthesis 2001(1/2)

8. Kumar M;Thammannagowda S;Bulone V;Chiang V;Han KH;Joshi CP;Mansfield SD;Mellerowicz E;Sundberg B;Teeri T;Ellis BE An update on the nomenclature for the cellulose synthase genes in Populus[外文期刊] 2009(5)

9. Marek Mutwil;Seth Debolt;Staffan Persson Cellulose synthesis: a complex complex[外文期刊] 2008(3)

10. Persson S;Wei HR;Milne J;Page GP;Somerville CR Identification of genes required for cellulose synthesis by regression analysis of public microarray data sets[外文期刊] 2005(24)

11. Sassner P;Galbe M;Zacchi G Steam pretreatment of Salix with and without SO2 impregnation for production of bioethanol 2005

12. Saxena I M;Brown R M Jr Cellulose synthase and related enzymes 2000(06)

13. Somerville C Cellulose synthesis in higher plants 2006(01)

14. Song D L;Shen J H;Li L G Characterization of cellulose synthase complexes in Populus xylem differentiation 2010(03)

15. Sonia B;Christopher J B;Neil G Interactions between MUR10/Ces7-dependent secondary cellulose biosynthesis and primary cell wall structure 2006(04)

16. Djerbi, S;Lindskog, M;Arvestad, L;Sterky, F;Teeri, TT The genome sequence of black cottonwood (Populus trichocarpa) reveals 18 conserved cellulose synthase (CesA) genes[外文期刊] 2005(5)

17. Suzuki S;Li L G;Sun Y H The cellulose synthase gene superfamily and biochemical functions of xylem-specific cellulose synthase-like genes in Populus trichocarpa 2006(03)

18. Tamura K;Dudley J;Nei M;Kumar S MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0[外文期刊] 2007(8)

19. Tanaka K.;Murata K.;Yamazaki M.;Onosato K.;Miyao A.;Hirochika H. Three distinct rice cellulose synthase catalytic subunit genes required for cellulose synthesis in the secondary wall[外文期刊] 2003(1)

20. Taylor N G;Howells R M;Huttly A K Interactions among three distinct CesA proteins essential for cellulose synthesis 2003(03)

21. Thompson J D;Higgins D G;Gibson T J CLUSTAL W:improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice 1994(22)

22. Turner S R;Somerville C R Collapsed xylem phenotype of Arabidopsis identifies mutants deficient in cellulose deposition in the secondary cell wall 1997(05)

23. [Wang Jian;Elliott Janet E.;Williamson Richard E.](#) Features of the primary wall CESA complex in wild type and cellulose-deficient mutants of *Arabidopsis thaliana*. [外文期刊] 2008(10)

引用本文格式: [陈亚娟](#). [王宏芝](#). [李瑞芬](#). [张中保](#). [崔莉洁](#). [魏建华](#). [Chen Yajuan](#). [Wang Hongzhi](#). [Li Ruifen](#). [Zhang Zhongbao](#). [Cui Lijie](#). [Wei Jianhua](#) [毛白杨纤维素合酶基因家族部分成员的克隆及表达](#) [期刊论文] - [林业科学](#) 2011(10)