

研究评述

A Review

甘薯抗逆相关基因的分子克隆

后猛[✉], 李强[✉], 刘亚菊[✉], 张允刚[✉], 王欣[✉], 唐维[✉], 马代夫[✉]

江苏徐州甘薯研究中心, 中国农业科学院甘薯研究所, 农业部甘薯生物学与遗传育种重点实验室, 徐州, 221131

✉ 通讯作者: instrong@163.com ✉ 作者

分子植物育种, 2012 年, 第 10 卷, 第 40 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0040

收稿日期: 2012 年 07 月 24 日

接受日期: 2012 年 07 月 30 日

发表日期: 2012 年 08 月 09 日

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):

后猛等, 2012, 甘薯抗逆相关基因的分子克隆, 分子植物育种(online) Vol.10 No.40 pp.1297-1304 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0040)

引用格式(英文):

Kou et al., 2012, Advances in Molecular Cloning of Stress Tolerance-related Genes from Sweetpotato, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.10 No.40 pp.1297-1304 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0040)

摘要 生物和非生物胁迫严重影响植物的生长及作物产量, 开发和利用抗逆品种是减少作物产量损失的一种有效方法。目前创造耐逆作物的手段主要包括基因工程等方法, 而提高植物生物和非生物胁迫抗逆性主要依赖于以下基因的表达, 一是参与信号和调控途径的基因, 二是编码抗逆蛋白或功能和结构代谢产物合成途径相关酶的基因。因此, 未来需要发掘更多的抗逆基因来提高作物对各种恶劣环境承受能力。甘薯广泛种植于世界各地, 它不仅富含多种对人体有益的物质, 而且适应性强, 这些特性都使得甘薯在解决世界人口营养不良及维护粮食安全等方面发挥着越来越重要的作用。虽然甘薯自身耐逆性较强, 但环境胁迫仍然是甘薯生产的制约因素。本文重点介绍了近年来甘薯抗氧化、编码转录因子、抗病、其他特殊防御机制等相关的抗逆相关基因分子克隆方面取得的成就。

关键词 甘薯; 环境胁迫; 抗逆基因; 分子克隆

Advances in Molecular Cloning of Stress Tolerance-related Genes from Sweetpotato

Kou Meng[✉], Li Qiang[✉], Liu Yaju[✉], Zhang Yungang[✉], Wang Xin[✉], Tang Wei[✉], Ma Daifu[✉]

Jiangsu Xuzhou Sweetpotato Research Center/Sweetpotato Research Institute, CAAS/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Sweetpotato, Ministry of Agriculture, Xuzhou, 221131

✉ Corresponding author, instrong@163.com ✉ Authors

Abstract Abiotic and biotic stresses severely suppress plant growth and crop yield. Development and utilization of stress-tolerant varieties is an efficient approach to reduce yield loss as a result of all sorts of harmful conditions. Current strategies used to create more stress-tolerant crops include such methods as genetic engineering. Plant engineering strategies for abiotic and biotic stresses tolerance are dependent upon the expression of genes that are involved in signaling and regulatory pathways or genes that encode proteins conferring stress tolerance or enzymes present in pathways leading to the synthesis of functional and structural metabolites. Consequently, further progress in enhancing crop resistance to various stresses will rely on more gene discoveries. Sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) is one of the major staple crops of the world and feeds millions of people in developing countries. This crop is a resilient, easily propagated crop, growing well in infertile and nitrogen poor soils. Even though being a hardy crop by nature, sweetpotato is faced with production constraints caused by stresses. This review intends to focus on the achievements in molecular cloning of stress tolerance-related genes from sweetpotato, such as oxidative stress tolerance-related genes, genes encoding transcription factors, disease resistance genes and other specific genes in the defensive system.

Keywords Sweetpotato; Environmental stresses; Stress-tolerant genes; Molecular clonings

研究背景

植物一般不能自由移动, 在整个生长周期, 它们的生长和生产能力受非生物胁迫(水淹, 干旱, 盐碱化, 高温, 冷冻, 紫外线, 矿物质匮乏和臭氧等)和生物胁迫(昆虫和病原菌感染等)的强烈影响。各

种环境胁迫使世界农作物产量及农业生产蒙受巨大的经济损失。与传统育种方法相比, 基因工程是提高植物抗逆性的一个相对快速、准确的手段。目前, 培育抗逆作物新品种已成为育种学家研究的重要目标。面对着不断膨胀的人口压力和日益恶化的

环境, 人们需要培育出更多、更好的耐逆作物, 以提高农业生产效率, 从而克服这些限制因素。

为了生存和应对不可预测的环境变化, 植物进化形成的多种机制和复杂的信号网络, 使它们能够迅速感知胁迫, 主动地调控耐胁迫反应。当植物遭遇环境胁迫时, 其抗性机制便会打开, 以减少自身损害。由于人们普遍认为这些机制是由基因调控的, 因此, 近几年的研究重点主要集中在胁迫条件下抗性基因的分离及其功能鉴定。抗逆基因工程利用的基因一般分为以下两类, 一类是功能基因, 其编码产物主要包括抗冻蛋白(AFP)、热休克蛋白(HSPs)和胚胎发育晚期丰富(LEA)蛋白等, 还包括一些渗透调节因子合成酶以及毒性降解酶等; 另一类是与抗逆相关的、其编码产物参与信号传递途径和基因表达调控过程的转录因子, 主要包括MYB类、bZIP类、NAC类、AP2/EREBP类以及WRKY类5大家族(张梅等, 2009)。

甘薯(*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)是世界上第七大粮食作物, 在发展中国家, 其产量仅次于水稻、小麦、玉米和木薯, 位居第五位。甘薯富含淀粉和其他碳水化合物, 是一种良好的能源作物; 同时甘薯含有 β -胡萝卜素、花青素、钙、铁等矿物质和多种维生素, 尤其是维生素A和C, 还是一种营养丰富的保健食品(Woolfe, 1992)。甘薯对环境胁迫有一定的抵抗力, 可以在一些比较贫瘠的土地上生长。甘薯本身具有的广泛适应性和丰富营养价值, 在世界各地, 特别是在发展中国家中, 对于预防营养不良和加强粮食安全起到一个至关重要的作用。虽然甘薯的重要性不言而喻, 但是相对于其他主要农作物, 甘薯分子生物学方面的研究还是比较匮乏。然而, 经过研究人员多年的不懈努力, 分子克隆技术现已被广泛应用于甘薯基因工程研究, 成为目前甘薯遗传育种的一条有效途径。本文主要目的是对多年来甘薯抗逆相关基因分子克隆的研究进展进行阐述。

1 抗氧化相关基因

分子氧(O_2)是生物体内重要的电子受体, 对于维护细胞的基本功能有着重要作用。在 O_2 还原成 H_2O 的过程中, 将会产生多种活性氧(reactive oxygen species, ROS)成分, 如超氧化物阴离子(O_2^-), 过氧化氢(H_2O_2), 羟自由基($OH\cdot$)和单线态氧(1O_2)等(Scandalios, 2005)。过多的活性氧可导致DNA、蛋白质、膜脂和其它细胞组分的损伤。在长期的进化过程中, 植物体发展出两个复杂的抗氧化系

统, 即酶促和非酶促系统, 以维持细胞平衡及其有效运作。超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、抗坏血酸过氧化物酶和谷胱甘肽过氧化物酶等属于前者, 而后者则包括维生素E、谷胱甘肽、甘露醇、类黄酮、类胡萝卜素和抗坏血酸等(Dabrowska et al., 2007)。

1.1 酶促清除系统

过氧化物酶(POD)广泛分布于植物的各个组织器官中, 在植物体内形成同工酶家族。其功能特点在于, 它催化由过氧化氢参与的各种还原剂的氧化反应, 使 H_2O_2 还原成 H_2O 而减小植物体内的氧化状态。它们是一类含有亚血红素单体的糖蛋白, 根据等电点的差异, 通常可将其分为酸性、中性或碱性POD(Yoshida et al., 2003)。过去, 人们在甘薯悬浮培养过程中建立了一个过氧化物酶的高效生产系统(Kwak et al., 1995), 至少有13个过氧化物酶基因的cDNA是从甘薯细胞中分离出来的, 其中包括7个酸性的(*swpa1*, *swpa2*, *swpa3*, *swpa4*, *swpa5*, *swpa6* and *swpa7*)、5个碱性的(*swpb1*, *swpb2*, *swpb3*, *swpb4* and *swpb5*)和1个中性的(*swpn1*)。同时, 人们还对它们的表达水平进行了研究, 以确定每个POD基因在各种环境压力和病原体感染情况下的生理功能特点(Huh et al., 1997; Kim et al., 1999; Kim et al., 2000; Park et al., 2003; Jang et al., 2004)。此外, 研究人员从甘薯中克隆到两个POD诱导型启动子(简称SWPA2和SWPA4)(Kim et al., 2003; Ryu et al., 2009)。Kim等(2003)和Ryu等(2009)指出, 在甘薯悬浮培养细胞中, 这两个启动子都比35S启动子表现出较高的GUS活性(Kim et al., 2003; Ryu et al., 2009)。在SWPA2和SWPA4启动子控制下, 转基因烟草植株的GUS活性在逆境和病原体的感染下得到强烈诱导(Kim et al., 2003; Ryu et al., 2009)。这两个启动子将有助于抗逆植株的创制, 特别是生产重要药物蛋白的转基因细胞株系的发展。

超氧化物歧化酶(SOD)是一种普遍存在的酶, 能够催化超氧化物通过歧化反应转化为氧气和过氧化氢, 在保护机体不受氧化胁迫中发挥重要作用。根据其结合金属离子种类不同, 可将其分为三类: 铁超氧化物歧化酶(FeSOD), 锰超氧化物歧化酶(MnSOD), 铜-锌超氧化物歧化酶(Cu/ZnSOD)(Alscher et al., 2002)。Lin等从甘薯根中克隆出全长的胞浆Cu/Zn-SOD cDNA, 并将其测序(Lin et al., 1993)。他们还进一步分析了Cu/Zn-SOD基因的结构特点, 并将其与其他物种来源的SOD基因组序列结

构相比较(Lin et al., 1995)。随后, 他们又从甘薯叶片愈伤组织中克隆出Mn-SOD cDNA, 并推导出此cDNA的氨基酸序列(Lin et al., 1997)。

坏血酸过氧化物酶(APX)能催化 H_2O_2 还原为 H_2O 的反应, 是清除 H_2O_2 的主酶类, 对抗坏血酸有很高的特异性和亲和性。到目前为止, 已经至少有五种APX亚型在植物中被确定: 细胞质亚型, 线粒体亚型, 过氧化物酶体/乙醛酸循环体亚型和叶绿体亚型(Miyake and Asada, 1996)。在对新的过氧化物酶基因的分离过程中, Park等从甘薯细胞培养组织中分离得到一个*swAPX1*基因(Park et al., 2004)。该基因有一个由250个氨基酸组成的ORF, 编码一个pI值为5.32的胞浆蛋白(Park et al., 2004)。RT-PCR分析表明, *swAPX1*能够强烈地被机械伤害、甲基紫精、 H_2O_2 、ABA和细菌病原体诱导(Park et al., 2004)。

(PPOs)是自然界中分布极广的一组铜金属蛋白酶, 能够通过分子氧化酚或多酚形成对应的醌。目前甘薯中的PPO (被称作*IbPPO*)的cDNA已由不同的实验室获得(彭世清和陈守才, 2002; Liao et al., 2006)。该*IbPPO* cDNA全长为1 984 bp, 拥有一个1 767 bp的开放阅读框, 编码588个氨基酸(Liao et al., 2006)。半定量RT-PCR分析结果表明, *IbPPO*基因可以在甘薯所有器官中表达, 只是表达水平有所差异(Liao et al., 2006)。对多酚氧化酶活性调节和运行机制的详细了解将促进抗褐化甘薯的发展。

除了以上讨论的这些基因, 其他编码抗氧化酶的基因, 如蛋白二硫键异构酶(PDI) (Huang et al., 2005)、脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR) (Jiang et al., 2008)、谷胱甘肽还原酶(GR) (Chen et al., 2009)和单脱氢抗坏血酸还原酶(MDAR) (Huang et al., 2010)已经被克隆。研究者还对这些基因的表达、酶学性质以及动力学特性也进行了一些研究。

1.2非酶促清除系统

紫色甘薯(PFSP)由于块根中花青素的大量积累而呈现出较深的紫色。最近对紫色甘薯生物医药学研究表明, 所提取的花青素表现出强烈的抗氧化活性(Kano et al., 2005)。目前人们对花青素的生物合成途径已有详细的研究, 花青素合成酶(ANS)是其一个重要组成部分, 可以将无色的原花青素氧化成有颜色的花青素。近几年, 两个编码ANS的全长cDNA从不同品种紫甘薯中分离出来(Zhou et al., 2010; Liu et al., 2010)。ANS基因有一个1 086 bp的开放阅读框, 且在基因组中含有两个ANS基因拷贝

(Liu et al., 2010)。实时定量PCR检测显示, ANS基因在块根中表达量最高, 在叶片中最低(Liu et al., 2010)。ANS表达量高低与花青素积累紧密相关, 这表明ANS基因与花青素的生物合成有着密切的联系。二氢黄酮醇4-还原酶(DFR)是花青素生物合成途径中另一种关键酶。Tanaka等从甘薯中克隆了一个DFR-B基因(Tanaka et al., 2004)。通过分析这个基因的核苷酸序列, 发现其外显子和侧翼区序列与那些以前报道的日本牵牛花DFR-B基因具有高度同源性(Tanaka et al., 2004)。通过扩增来自不同甘薯品种的DFR-B基因, 还发现至少存在四个等位基因序列(Tanaka et al., 2004)。

类胡萝卜素是许多植物激素和信号物质的合成前提。作为类胡萝卜素之一, β -胡萝卜素除了具有维生素A活性, 也是一种抗氧化剂。黄肉甘薯(YFSP)作为一种功能性食品, 因其类胡萝卜素含量丰富而闻名。Chen等利用简并引物和RACE技术从甘薯中分离出四个编码 β -胡萝卜素合成途径关键酶基因(陈选阳等, 2005)。RNA印迹分析表明, 这些酶基因在块根发育前期强烈表达, 表达量最高的是ZDS, 最低的是LYC(陈选阳等, 2005)。随后, 另一种类胡萝卜素合成关键酶—八氢番茄红素脱氢酶基因(PDS)也被克隆出来(王飞, 2007)。该PDS基因推导的氨基酸序列有572个氨基酸残基, 与其他植物相应的序列具有明显的同源性(王飞, 2007)。

2编码转录因子的基因

转录因子(TF)是一种DNA结合蛋白, 在特定的位点与DNA结合, 并在此位置调节DNA转录。许多存在于植物中的转录因子, 通过结合特殊的顺式作用DNA序列来调节靶基因的表达以应对胁迫损害。因此, 转录因子是基因工程的一个有力工具。

作为转录因子的一员, MADS-盒蛋白在植物发育过程中, 包括黄酮类化合物新陈代谢中起到重要的作用。Lalusin等(2006)报道了甘薯一个*IbMADS10*盒基因(*IbMADS10*)的克隆及其功能特性的研究结论(Lalusin et al., 2006)。这一基因在甘薯色素沉积组织, 特别是花蕾和根中高度表达(Lalusin et al., 2006)。表达分析、组织印染和过表达分析结果支持*IbMADS10*基因参与甘薯特定组织花青素色素沉着的假说(Lalusin et al., 2006)。

MYB是一种公认的DNA结合蛋白, 参与植物发育的各个方面。许多MYB蛋白已被鉴定出控制黄酮类化合物结构基因的转录。Mano等从紫色甘薯

cDNA文库中分离出一种R2R3-类型MYB基因, 其主要在块根表达(Mano et al., 2007)。IbMYB1基因的瞬时和稳定性表达导致花青素色素沉着于甘薯各种组织(Mano et al., 2007)。这些结果表明, IbMYB1基因控制甘薯块根中紫色色素积累。

WRKY转录因子是植物转录调控因子家族成员之一, 参与植物各种生理活动, 但最引人注目的是对各种不同生物和非生物胁迫的应激反应。第一个WRKY基因(IbSPF1)最初是从甘薯中克隆出来的(Ishiguro and Nakamura, 1994)。这个基因编码一种DNA结合蛋白—SPF1, 而SPF1则可以结合到甘薯块根贮藏蛋白和 β -淀粉酶基因5'-端上游的SP8a (ACTGTGTA)和SP8b (TACTATT)序列, 对基因表达有调控作用(Ishiguro and Nakamura, 1994)。到目前为止, 这一迅速发展的植物研究领域已取得许多重大的研究成果。虽然SPF1是WRKY家族中第一个被人们发现的成员, 但是十多年来其功能一直未被系统研究。

3抗病基因

植物抗病基因(R基因)编码的蛋白质对病原菌专化性识别并激发抗病反应。自1992年以来, 已从不同植物中克隆到至少40个R基因, 分别抗细菌、真菌、病毒和线虫等不同的病原物。根据其蛋白结构及其在细胞中的位置, R基因大致可分为五类, 主要包括毒素还原酶类抗病基因、NBS-LRR类抗病基因、蛋白激酶(PK)类抗病基因、LRR-TM类抗病基因和LRR-TM-PK类抗病基因等。根据已克隆植物抗病基因的保守结构域设计简并引物, 陈观水等(陈观水等, 2006)和王钰等(王钰等, 2008)分别从甘薯基因组DNA中分离出15条和342条抗病基因类似物(RGAs)。其中15条RGA之间核苷酸序列间的相似性系数介于41.2%至99.4%之间(陈观水等, 2006)。342条RGA与已知的L6, N和RGC1等具有高度同源性(王钰等, 2008)。同时对分离的RGAs核苷酸和氨基酸序列进行系统发育树分析, 表明甘薯RGAs可分为TIR (Drosophila Toll or human interleukin receptor like)和nonTIR两类(陈观水等, 2006; 王钰等, 2008)。这些结果表明, 从甘薯中分离得到的RGAs可能具有相同的起源和进化机制, RGAs分子克隆技术将为甘薯抗病分子育种提供一个新途径。

肌醇及其衍生物作为一种重要的渗透保护物质, 不仅是植物细胞中磷元素的主要贮存形式, 而且在信号转导、保护植物免受外部逆境伤害、激素

贮存与运输、细胞壁生物合成等方面都起到十分重要的作用。肌醇-1-磷酸合成酶类蛋白基因(MIPS)催化G-6-P形成1-磷酸肌醇, 是所有真核生物中肌醇生物合成的限速步骤。在前几年研究中, 人们采用RT-PCR技术克隆了甘薯肌醇-1-磷酸合酶基因的cDNA编码区, 命名为IbMIPS-1(翟红和刘庆昌, 2009)。实时定量RT-PCR分析结果表明, 茎线虫侵染甘薯块根后, IbMIPS-1基因被诱导表达, 并且在侵染后的第4天表达量最高(翟红和刘庆昌, 2009)。推测该基因可能参与甘薯抗茎线虫病信号传导, 以诱发甘薯茎线虫病抗性反应。

病程相关非表达子1基因(nonexpressor of pathogenesis-related genes 1)首先从拟南芥中克隆得到, 是调控植物病害抗性的关键基因。NPR1不仅对植物系统获得抗性(SAR)和诱导系统抗性(ISR)起核心调控作用, 而且是植物基础抗性和由抗病基因所决定的植物抗病性的重要调控因子(张红志和蔡新忠, 2005)。陈观水等采用同源克隆和cDNA末端快速扩增(RACE)技术, 从甘薯中分离出一个IbNPR1(病程相关非表达子1基因)全长cDNA(陈观水等, 2009)。推导的氨基酸序列包含有类似拟南芥NPR1蛋白中的BTB/POZ和锚蛋白重复氨基酸序列结构域(陈观水等, 2009)。聚类分析显示IbNPR1与来源于番茄的NPR1蛋白关系最近(陈观水等, 2009)。IbNPR1基因属于低拷贝基因家族, 可以在不同组织中得到转录, 并且外源SA能提高其表达水平(陈观水等, 2009)。由此推测, IbNPR1可能在甘薯抵御病原物的侵染中起重要作用。

4其他特殊防御基因

sporamin蛋白是甘薯块根中含量最丰富的蛋白质, 约占可溶性蛋白的60%~80%。它不仅为幼苗的萌发提供营养物质(Hattori et al., 1989), 而且还具有强烈的抑制胰蛋白酶活性(Yeh et al., 1997a)和昆虫防御能力(Yeh et al., 1997b)。自第一个sporamin蛋白基因从甘薯块根cDNA文库中分离以来, 至少有10个甘薯sporamin蛋白基因已经被克隆(Hattori et al., 1989; Chen et al., 1997)。为了揭示sporamin蛋白基因对创伤反应的调控机制, 一个大小为1.25 kb的sporamin蛋白启动子被克隆出来, 用来研究创伤诱导的信号转导(Wang et al., 2002)。sporamin蛋白启动子在植物地上部分受伤害时表达。茉莉酸和乙烯有效地激活了sporamin启动子, 但是水杨酸却起到了负调控的作用。因此, sporamin蛋白基因表达受到植物十八碳

酸代谢途径的调控。

*Ipomoelin (IPO)*基因是从甘薯受伤叶片中分离出来的, 其表达受茉莉酸甲酯和机械损伤的诱导(Imanishi et al., 1997; Chen et al., 2003b)。以往的研究数据表明, 该基因的表达受钙、蛋白磷酸酶、蛋白激酶、 H_2O_2 、NO和乙烯的调控(Chen et al., 2003b; Jih et al., 2003; Chen et al., 2008)。Southern和northern印染证实, 甘薯*IPO*基因有两个拷贝。依据其序列, *IPO*蛋白属于一种类似于木菠萝素的外源凝集素。昆虫饲养试验证实*IPO*蛋白是一个防御相关蛋白, 它能够抑制蚕的生长, 并较少其存活率(Chen et al., 2005)。

Expansin (扩张蛋白)是一类在细胞伸长过程中发挥重要作用的蛋白质。同时, 扩张蛋白活性也被认为受许多非生物胁迫的影响。人们从甘薯早期块根cDNA文库中克隆得到三个冷胁迫应答基因(*IbEXP1*, *IbEXP2* and *IbEXPL1*) (Noh et al., 2009)。这三个expansin基因在不同低温情况下的转录调控也得到了检验。结果表明, 经过 $12^{\circ}C$ 处理后, 甘薯表皮细胞的伸长生长速度明显地降低(Noh et al., 2009)。 $12^{\circ}C$ 处理情况下, 这三个expansin基因的表达最终都受到抑制, 但每个expansin基因表现出自己独特的低温反应模式(Noh et al., 2009)。

植物防御素已被证明是植物免疫系统的主要成分。植物防御素是一类分子量小(由45~54个氨基酸组成)、呈碱性、富含半胱氨酸、具有复杂三维折叠结构的短肽, 在整个植物界普遍存在。截止到目前, 分离出的大多数植物防御素能够抑制一系列植物病原菌的生长, 尤其是对丝状真菌具有强烈的活性作用。Huang等从甘薯块根中克隆出一个编码分子量小且富含半胱氨酸的防御素(*SPD1*)的cDNA(Huang et al., 2008)。该基因的开放阅读框编码80个氨基酸(预测分子量大小为8 643 Da), 预测的氨基酸序列与植物蛋白酶抑制剂、防御素或 γ -硫堇有相当的同源性, 而这些物质是典型的植物抗真菌/抗细菌多肽(Huang et al., 2008)。*SPD1*兼具脱氢抗坏血酸还原酶和丙二醛还原酶活性, 可同时抑制真菌和细菌生长(Huang et al., 2008)。

铜、锌等重金属元素对植物正常生长和发育至关重要。然而当重金属含量过高时, 它通过干扰细胞正常代谢过程, 抑制植物生长发育, 对植物表现明显的毒害作用。为了减轻重金属毒性, 很多植物在长期进化过程中相应地产生了一系列抵抗重金

属毒害的防御机制。金属硫蛋白(metallothionein, MT)是一类分子量较低、富含半胱氨酸残基的蛋白质。MT对多种重金属有高度亲和性, 从而有助于通过缓冲细胞质金属浓度来缓解金属毒害。依据其氨基酸序列中半胱氨酸残基的排列方式, MT可分为四类。Chen等从甘薯叶中分离出来两个编码MT类似蛋白的全长cDNA (*Y459*和*G14*) (Chen et al., 2003a)。半定量RT-PCR结果显示, *Y459*基因在甘薯根和茎中表达量较高, 但在绿叶中表达量却少得多; 在自然或诱导叶片衰老的条件下, *Y459*基因表达受乙烯控制, 但不受ABA和JA影响。而*G14*基因的表达水平在所有组织或处理下相对恒定(Chen et al., 2003a)。这些基因可能发挥不同的生理作用或功能, 以应对特定的环境条件或胁迫。

5结论

作为一种重要的粮食、工业原料和新型能源作物, 甘薯在世界粮食和能源安全中将发挥越来越重要的作用。迄今为止, 虽然甘薯基因工程已取得不少进展, 但是由于其自身基因组较小、染色体数目($2n=6X=90$)较多、倍性(六倍体)较高以及自交或杂交不亲和等诸多原因, 人们对甘薯遗传基础仍然知之甚少。因此, 可以通过从甘薯中克隆更多的基因, 并对其特性深入研究来了解其生理功能, 从而达到全面认识甘薯这一重要作物的目的。甘薯中含有大量抗逆性相关基因, 可以将其分离出来, 然后将这些基因通过高效转化技术导入甘薯或其他物种, 以改善它们对生物和非生物胁迫的抗性。

作者贡献

后猛和李强是本综述的设计和研究的执行人; 后猛、刘亚菊完成资料分析, 论文初稿的写作; 张允刚、王欣和唐维参与本综述的校对工作; 李强和马代夫是项目的构思者及负责人, 指导论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由国家高技术研究发展(863)计划(2012AA101204), 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-11), 江苏省“333工程”培养计划(BRA2011033)和江苏省“六大人才高峰”(2008201)资助。

参考文献

Alscher R.G., Erturk N., and Heath L.S., 2002, Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants, *Journal of Experimental Botany*, 53: 1331-1341
<http://dx.doi.org/10.1093/jexbot/53.372.1331> PMID:11997379

- Chen C.J., Huang C.Y., Huang J.K., Lin C.Y., and Lin C.T., 2009, Cloning, expression, and purification of a functional glutathione reductase from sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam): kinetic studies and characterization, *J. Agric. Food Chem.*, 57(10): 4403-4408 <http://dx.doi.org/10.1021/jf900045p> PMID:19358534
- Chen G.S., Zhou Y.F., Lin S., and Pan D.R., 2006, Isolation and sequence analysis of NBS-type resistance gene analogues in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), *Redai Yaredai Zhiwu Xuebao (Journal of Tropical and Subtropical Botany)*, 14(5): 359-365 (陈观水, 周以飞, 林生, 潘大仁, 2006, 甘薯NBS类抗病基因类似物的分离与序列分析, *热带亚热带植物学报*, 14(5): 359-365)
- Chen G.S., Zhou Y.F., Lin S., Zhang Z., and Pan D.R., 2009, Isolation and characterization of *IbNPR1* gene from sweet potato (*Ipomoea batatas*), *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 35(12): 2218-2224 (陈观水, 周以飞, 林生, 张铮, 潘大仁, 2009, 甘薯*IbNPR1*全长cDNA序列的分离与表达特性分析, 35(12): 2218-2224)
- Chen H.J., Hou W.C., Yang C.Y., Huang D.J., Liu J.S., Lin Y.H., 2003a, Molecular cloning of two metallothionein like protein genes with differential expression patterns from sweet potato (*Ipomoea batatas*) leaves, *J. Plant Physiol.*, 160(5): 547-555 <http://dx.doi.org/10.1078/0176-1617-01040> PMID:12806784
- Chen Y.C., Tseng B.W., Huang Y.L., Liu Y.C., and Jeng S.T., 2003b, Expression of the ipomoelin gene from sweet potato is regulated by dephosphorylated proteins, calcium ion and ethylene, *Plant Cell Environ.*, 26(8): 1373-1383 <http://dx.doi.org/10.1046/j.0016-8025.2003.01062.x>
- Chen J.C., Chen Y.M., and Yeh K.W., 1997, Isolation and characterization of new sporamin gene members from sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.), *Taiwania*, 42: 34-42
- Chen X.Y., Yuan Z.N., and Zhang Z.J., 2005, Studies on biosynthesis and accumulation of β -carotene of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.), In: Ma D.F., Liu Q.C.(eds.), *Sweetpotato Breeding and Industrialization in China*, China Agricultural University Press, Beijing, China, pp. 217-222 (陈选阳, 袁照年, 张招娟, 2005, 甘薯 β -胡萝卜素合成与积累的研究, 见: 马代夫, 刘庆昌(编著), *中国甘薯育种与产业化*, 中国农业大学出版社, 中国, 北京, pp.217-222)
- Chen Y.C., Chang H.S., Lai H.M., and Jeng S.T., 2005, Characterization of the wound-inducible protein ipomoelin from sweet potato, *Plant Cell Environ.*, 28: 251-259 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.2005.01271.x>
- Chen Y.C., Lin H.H., and Jeng S.T., 2008, Calcium influxes and mitogen-activated protein kinase activation mediate ethylene inducing ipomoelin gene expression in sweet potato, *Plant Cell Environ.*, 31(1): 62-72 PMID: 17971062
- Dabrowska G., Kata A., Goc A., Szechynska-Hebda M., and Skrzypek E., 2007, Characteristics of the plant ascorbate peroxidase family, *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 49(1):7-17
- Hattori T., Yoshida N., and Nakamura K., 1989, Structural relationship among the members of a multigene family coding for the sweet potato tuberous root storage protein, *Plant Mol. Biol.*, 13(5): 563-572 <http://dx.doi.org/10.1007/BF00027316> PMID:2491673
- Huang C.Y., Wen L., Juang R.H., Sheu D.C., and Lin C.T., 2010, Monodehydroascorbate reductase cDNA from sweet potato: expression and kinetic studies, *Botanical Studies*, 51: 37-44
- Huang D.J., Chen H.J., and Lin Y.H., 2005, Isolation and expression of protein disulfide isomerase cDNA from sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam 'Tainong57') storage roots, *Plant Science*, 169(4): 776-784 <http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.05.034>
- Huang G.J., Lai H.C., Chang Y.S., Sheu M.J., Lu T.L., Huang S.S., and Lin Y.H., 2008, Antimicrobial, dehydroascorbate reductase, and monodehydroascorbate reductase activities of defensin from sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam. 'Tainong57'] storage roots, *J. Agric. Food Chem.*, 56(9): 299-295 <http://dx.doi.org/10.1021/jf072994j> PMID:18393437
- Huh G.H., Lee S.J., Bae Y.S., Liu J.R. and Kwak S.S., 1997, Molecular cloning and characterization of cDNAs for anionic and neutral peroxidases from suspension-cultured-cells of sweet potato and their differential expression in response to stress, *Mol. Gen. Genet.*, 255(4): 382-391 <http://dx.doi.org/10.1007/s004380050510>
- Imanishi S., Kito-Nakamura K., Matsuoka K., Morikami A., and Nakamura K., 1997, A major jasmonate-inducible protein of sweet potato, ipomoelin, is an ABA-independent wound-inducible protein, *Plant Cell Physiol.*, 38(6): 643-652 <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a029216> PMID: 949986
- Ishiguro S., and Nakamura K., 1994, Characterization of a cDNA encoding a novel DNA-binding protein, SPF1, that recognizes SP8 sequences in the 5' upstream regions of genes coding for sporamin and beta-amylase from sweet potato, *Mol. Gen. Genet.*, 244 (6): 563-571 <http://dx.doi.org/10.1007/BF00282746>
- Jang I.C., Park S.Y., Kim K.Y., Kwon S.Y., Kim J.G. and Kwak S.S., 2004, Differential expression of 10 sweetpotato peroxidase genes in response to bacterial pathogen, *Pecto*

- bacterium chrysanthemi, *Plant Physiol. Biochem.*, 42(5): 451-455 <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.04.002> PMID:15191750
- Jiang Y.C., Huang C.Y., Wen L., and Lin C.T., 2008, Dehydroascorbate reductase cDNA from sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam): expression, enzyme properties, and kinetic studies, *J. Agric. Food Chem.*, 56(10): 3623-3627 <http://dx.doi.org/10.1021/jf073511e> PMID:18444663
- Jih P.J., Chen Y.C., and Jeng S.T., 2003, Involvement of hydrogen peroxide and nitric oxide in expression of the ipomoelin gene from sweet potato, *Plant Physiol.*, 132(1): 381-389 <http://dx.doi.org/10.1104/pp.102.015701> PMID:2746543 PMCid:166983
- Kano M., Takayanagi T., Harada K., Makino K., and Ishikawa F., 2005, Antioxidative activity of anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoea batatas* cultivar Ayamurasaki, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 69(5): 979-988 <http://dx.doi.org/10.1271/bb.6.9.979> PMID:15914919
- Kim K.Y., Huh G.H., Lee H.S., Kwon S.Y., Hur Y., and Kwak S.S., 1999, Molecular characterization of cDNAs for two anionic peroxidases from suspension cultures of sweet potato, *Mol. Gen. Genet.*, 261(6): 941-947 <http://dx.doi.org/10.1007/s004380051041>
- Kim K.Y., Kwon H.K., Kwon S.Y., Lee H.S., Hur Y., Bang J.W., Choi K.S., and Kwak S.S., 2000, Differential expression of four sweet potato peroxidase genes in response to abscisic acid and ethephon, *Phytochemistry*, 54(1): 19-22 [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00014-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00014-5)
- Kim K.Y., Kwon S.Y., Lee H.S., Hur Y., Bang J.W., and Kwak S.S., 2003, A novel oxidative stress-inducible peroxidase promoter from sweetpotato: molecular cloning and characterization in transgenic tobacco plants and cultured cells, *Plant Mol. Biol.*, 51(6): 831-838 <http://dx.doi.org/10.1023/A:1023045218815> PMID:12777043
- Kwak S.S., Kim S.K., Lee M.S., Jung K.H., Park I.H., and Liu J.R., 1995, Acidic peroxidases from suspension-cultures of sweet potato, *Phytochemistry*, 39(5): 981-984 [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422\(9\)00098-R](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(9)00098-R)
- Lalusin A.G., Nishita K., Kim S.H., Ohta M., and Fujimura T., 2006, A new MADS-box gene (IbMADS10) from sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) is involved in the accumulation of anthocyanin, *Mol. Genet. Genomics.*, 275(1): 44-54 <http://dx.doi.org/10.1007/s00438-005-0080-x> PMID:163667
- Liao Z., Chen R., Chen M., Yang Y., Fu Y., Zhang Q., and Lan X., 2006, Molecular cloning and characterization of the polyphenol oxidase gene from sweetpotato, *Molecular Biology*, 40: 907-913 <http://dx.doi.org/10.1134/S0026893> 306060094
- Lin C.T., Lin M.T., and Shaw J.F., 1997, Cloning and characterization of a cDNA for manganese superoxide dismutase from callus of sweet potato, *J. Agric. Food Chem.*, 45(2): 521-525 <http://dx.doi.org/10.1021/jf960484b>
- Lin C.T., Lin M.T., Chen Y.T., and Shaw J.F., 1995, The gene structure of Cu/Zn-superoxide dismutase from sweet potato, *Plant Physiol.*, 108(2): 827-828 <http://dx.doi.org/10.1104/pp.108.2.827> PMID:7610172 PMCid:157408
- Lin C.T., Yeh K.W., Kao M.C., and Shaw J.F., 1993, Cloning and characterization of a cDNA encoding the cytosolic copper/zinc-superoxide dismutase from sweet potato tuberous root, *Plant Mol. Biol.*, 23(4): 911-913
- Liu X.Q., Chen M., Li M.Y., Yang C.X., Fu Y.F., Zhang Q.T., Zeng L.J., and Liao Z.H., 2010, The anthocyanidin synthase gene from sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam): Cloning, characterization and tissue expression analysis, *African Journal of Biotechnology*, 9(25): 3748-3752
- Mano H., Ogasawara F., Sato K., Higo H., and Minobe Y., 2007, Isolation of a regulatory gene of anthocyanin biosynthesis in tuberous roots of purple-fleshed sweet potato, *Plant Physiol.*, 143(3): 1252-1268 <http://dx.doi.org/10.1104/p.106.094425> PMID:17208956 PMCid:1820918
- Miyake C., Asada K., 1996, Inactivation mechanism of ascorbate peroxidase at low concentrations of ascorbate; hydrogen peroxide decomposes compound I of ascorbate peroxidase, *Plant and Cell Physiology*, 37: 423-430 <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a028963>
- Noh S.A., Park S.H., Huh G.H., Paek K.H., Shin J.S., and Bae J.M., 2009, Growth retardation and differential regulation of expansin genes in chilling-stressed sweet potato, *Plant Biotechnol. Rep.*, 3:75-85 <http://dx.doi.org/10.1007/s11816-008-0077-0>
- Park S.Y., Ryu S.H., Jang I.C., Kwon S.Y., Kim J.G., and Kwak S.S., 2004, Molecular cloning of a cytosolic ascorbate peroxidase cDNA from cell cultures of sweet potato and its expression in response to stress, *Mol. Genet. Genomics.*, 271(3): 339-346 <http://dx.doi.org/10.1007/s00438-004-0986-8> PMID:14986108
- Park S.Y., Ryu S.H., Kwon S.Y., Lee H.S., Kim J.G., and Kwak S.S., 2003, Differential expression of six novel peroxidase cDNAs from cell cultures of sweet potato in response to stress, *Mol. Genet. Genomics.*, 269(4): 542-552 <http://dx.doi.org/10.1007/s00438-003-0862-y> PMID:12802681
- Peng S.Q., and Chen S.C., 2002, Cloning and sequence analysis of sweet potato polyphenol oxidase cDNA, *Nongye Shengwu Jishu Xuebao (Journal of Agricultural Biotechnology)*, 10(3): 241-245 (彭世清, 陈守才, 2002, 甘薯

- 多酚氧化酶cDNA的克隆及序列分析, 农业生物技术学报, 10(3): 241-245)
- Ryu S.H., Kim Y.H., Kim C.Y., Park S.Y., Kwon S.Y., Lee H.S., and Kwak S.S., 2009, Molecular characterization of the sweet potato peroxidase *SWPA4* promoter which responds to abiotic stresses and pathogen infection, *Physiol. Plant.*, 135(4): 390-399 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01197.x> PMID:19226312
- Scandalios J.G., 2005, Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses, *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 38(7): 995-1014 <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X2005000700003> PMID:16007271
- Tanaka M., Nakatani M., Nakazawa Y., and Takahata Y., 2004, Structural characterization of the dihydroflavonol 4-reductase B (DFR-B) gene in the sweet potato, *DNA Sequencing*, 15(4): 277-282 <http://dx.doi.org/10.1080/10425170400004120>
- Wang F., 2007, Clone of full-length cDNA of phytoene desaturase (Gene *pds*) gene in sweet potato (*Ipomoea Batatas* L.), *Anhui Ligong Daxue Xuebao (Journal of Anhui University of Science And Technology)*, 27(1): 55-58 (王飞, 2007, 甘薯类胡萝卜素合成酶基因*pds*全长cDNA的克隆, *安徽理工大学学报*, 27(1): 55-58)
- Wang S.J., Lan Y.C., Chen S.F., Chen Y.M., and Yeh K.W., 2002, Wound-response regulation of the sweet potato sporamin gene promoter region, *Plant Mol. Biol.*, 48(3): 223-231 <http://dx.doi.org/10.1023/A:1013359227041> PMID:11855724
- Wang Y., Wang R.F., and He G.H., 2008, Cloning of resistance gene analog (RGA) from sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam), *Nanjing Nongye Daxue Xuebao (Journal of Nanjing Agricultural University)*, 31(3): 81-86 (王钰, 王荣富, 何国浩, 2008, 甘薯抗病基因同源序列的克隆与分析, *南京农业大学学报*, 31(3): 81-86)
- Woolfe J.A., ed., 1992, Sweet potato: an untapped food resource, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom, pp.118-187
- Yeh K.W., Chen J.C., Lin M.I., Chen Y.M., and Lin C.Y., 1997a, Functional activity of sporamin from sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.): a tuber storage protein with trypsin inhibitory activity, *Plant Mol. Biol.*, 33(3): 565-570 <http://dx.doi.org/10.1023/A:1005764702510> PMID: 9049277
- Yeh K.W., Lin M.I., Tuan S.J., Chen Y.M., Lin C.Y., and Kao S.S., 1997b, Sweet potato (*Ipomoea batatas*) trypsin inhibitors expressed in transgenic tobacco plants confer resistance against *Spodoptera litura*, *Plant Cell Rep.*, 16: 696-699 <http://dx.doi.org/10.1007/s002990050304>
- Yoshida K., Kaothien P., Matsui T., Kawaoka A., and Shinmyo A., 2003, Molecular biology and application of plant peroxidase genes, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 60(6): 665-670 PMID:12664144
- Zhai H., and Liu Q.C., 2009, Expression analysis of sweet potato myo inositol-1-phosphate synthase gene, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 7(3): 537-544 (翟红, 刘庆昌, 2009, 甘薯肌醇-1-磷酸合酶基因的表达分析, *分子植物育种*, 7(3): 537-544)
- Zhang H.Z., and Cai X.Z., 2005, Nonexpressor of pathogenesis-related genes 1 (*NPRI*): a key node of plant disease resistance signalling network, *Shenwu Gongcheng Xuebao (Chinese Journal of Biotechnology)*, 21(4): 511-515 (张红志, 蔡新忠, 2005, 病程相关基因非表达子1 (*NPRI*): 植物抗病信号网络中的关键节点, *生物工程学报*, 21(4): 511-515)
- Zhang M., Liu W., and Bi Y.P., 2009, Dehydration-responsive element-binding (DREB) transcription factor in plants and its role during abiotic stresses, *Yichuan (Hereditas)*, 31(3): 236-244 (张梅, 刘炜, 毕玉平, 2009, 植物中DREBs类转录因子及其在非生物胁迫中的作用, *遗传*, 31(3): 236-244)
- Zhou W., Huang C.T., Gong Y.F., Feng Q.L., and Gao F., 2010, Molecular cloning and expression analysis of an *ANS* gene encoding anthocyanidin synthase from purple fleshed sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam], *Plant Mol. Biol. Rep.*, 28(1): 112-121 <http://dx.doi.org/10.1077/1105-00-03-0>