

黄瓜白粉病相关基因的生物信息 分析

刘秋磊 鲁宏伟
于海龙 张 硕

2013.6.23

研究背景

- 黄瓜栽培在我国蔬菜栽培中占有重要地位，而且实现了保护地大面积栽培
- 园艺蔬菜的保护地种植实现了新鲜蔬菜的全年供应，并且提高了蔬菜商品的质量，但是由于保护地较之于传统农业栽培方式，其不足是环境较郁闭，容易造成蔬菜栽培环境的湿度较大，土壤环境和结构较单一等不足，这就为蔬菜的病害发生提供了一定的可能性。
- 目前，白粉病系黄瓜常发性病害，病征为幼叶、嫩茎、花芽等处出现白粉状霉斑，逐渐扩大，厚密，不久连成一片，遮蔽植物进行光合作用的绿色组织，严重影响黄瓜植株的光合作用，使菜农遭受经济损失。

- 目前，该病进行防治主要通过栽培方式来进行。
- 我们想，分析黄瓜中是否含有致病基因，如果含有该基因，通过分析该基因以及相应的蛋白，来解释黄瓜的发病原因和规律，进而来指导抗白粉病黄瓜品种的选育工作。
- 有文献报道，在甜瓜中有基因***CmMlo2***，是植物特有基因，该基因属于mlo蛋白基因家族，与白粉病发病有关，可编码产生具有七个跨膜区的蛋白，与大麦白粉病抗性蛋白有很高的相似性，所编码的蛋白在原生质膜上发挥功能。
- 该跨膜蛋白与植物表皮细胞的离子运输通道有关系，而植物细胞尤其是表皮细胞内相关离子（如镉离子）的含量，会影响到其渗透特性以及对病原的抗性，这可能是造成该基因与白粉病抗性有关的原因。

研究思路

- 通过阅读文献，发现在甜瓜的感病品系中存在导致西瓜感染白粉病的mRNA序列，登录号：**FJ713541**
- 用基因FJ713541在黄瓜基因组序列中BLAST，得到15段断裂的核酸片段，经分析发现，这15个片段都位于第五条染色体（我本课题组做的qtl分析结果一致）且位置相近，从黄瓜基因组中将包含这15个片段的核酸序列截取出来，在softberry中预测基因，得到一个预测基因，定名为：*Cucumber Mlo*

基因 *FJ713541* 与基因 *Cucumber Mlo* 的获得

- **Cheng H** 等在 Molecular cloning and expression analysis of CmMlo1 in melon 中克隆得到了基因 *FJ713541*

基因 *FJ713541* 对应蛋白的序列：

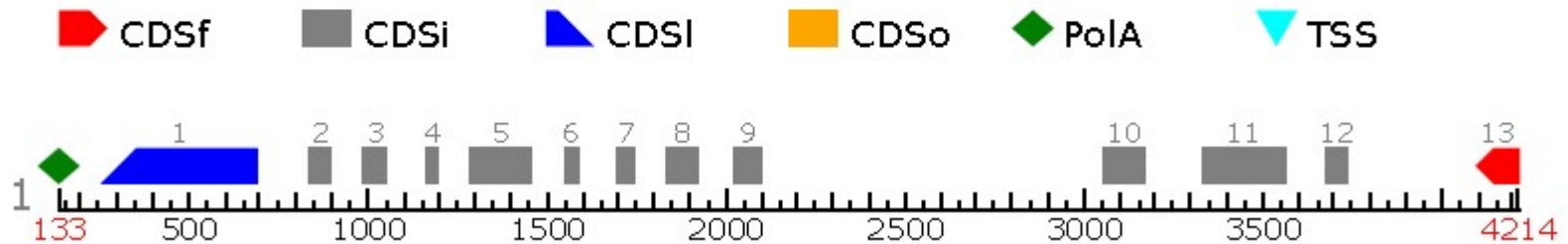
>FJ713541_protein

```
MAECGTEQRTLEDTSTWAVAVVCFFLVVISIFIEHVIHLTGKWLEKKHKPA  
LVEALEKVKAELMLLGFISLLLVGQDAVTQICVSKELAATWLPCAARA  
KAGVKVAKNSRLRLLEFLDPDYGSRRILASKGDDACAKRGQLAFVSAY  
GIHQLHIFIFVLAVFHVLYCIITLAFGR TKMSKWKAWEDETKTIEYQYYN  
DPA RFRFARDTTFGRRHLSFWSRTPISLWIVCFRQFFGSVTKVDYMTLR  
HGFIVAHLAPGGEVKFDFHKYISRSLEDDFKVVVVGISPAMWLFVLFILT  
NTNGWYSYLWLPFISLFIILLVGTKLHVIIITHMGLTIQERGHVVKGVPVV  
QPRDDLFWFGRPQLILFLIHVLFMNAFQLAFFAWTTYAFTWRGCFHQRI  
EDIAIRLSMGVIIQVLC SYVTLPLYALVTQMGSNMRPTIFNDRVATALKN  
WHHS AKKNMKQHRNPDSTSPFSSRPTTP THGMSPIHLLHKHQHGSTSPR  
LSDAEPDQWEELPPSSHNR AHDNQDQQEQSETSREQEMTVQRPSSET  
GSITRPARPHQEITRSPSDF SFAK
```

• 基因cucumber mol的获得

FJ713541在黄瓜基因组中BLAST，得到与该基因相似度很高的15段断裂的核酸片段，从黄瓜基因组中将这15个片段的核酸序列截取出来，在softberry中预测基因，得到黄瓜中的基因，定名为：cucumber mlo，softberry结果：

FGENESH 2.6 Prediction of potential genes in Dicot_arab genomic DNA
Seq name: cucumber_seq 5600bp
Length of sequence: 4240
Number of predicted genes 1: in +chain 0, in -chain 1.
Number of predicted exons 13: in +chain 0, in -chain 13.
Positions of predicted genes and exons: Variant 1 from 1, Score:99.743170



- 基因 *Cucumber Mlo* 的蛋白序列：

- >cucumber mlo_protein

MAECGTEQRTLEDTSTWAVAVVCFFLVVISIFIEHVIHILTGKWL
EKRHKPALVEALEKVKAELMLLGFISLLLTIGQDAVTQICVSKEL
AATWLPCAARAKTGVKVAKNSRLRLLLEFLDPDYGSRRILASKG
DDACAKRGQLAFVSAYGIHQHIFIFVLAVFHVLYCIITLAFGRT
KVCFFRQFFGSVTKVDYMTLRHGFIVAHLAPGSEVKFDFHKEYIS
RSLEDDFKVVVGISPAMWLFVLFILTNTNGWYSYLWLPFISLII
ILLVGTKLHVIIITHMGLTIQERGHVVKGVPVVQPRDDLFWFGRP
QLILFLIHFVLFMNAFQLAFFAWTTYAFKWMGCFHQRVEDIVIR
LSMGVIIQVLC SYVTLPLYALVTQMGSNMRPTIFNDRVATALKN
WHHSAKKNMKQHRNPDSTSPFSSRPATPTHGMSPIHLLHKHQ
HGSTSPRLSDAEPDRWEELPPSSHHSRAPHHDNHQDQQEQS
ETIIREQEMTVQGPSSSETGSITRPARPHQEITRTPSDFSFSAK

- 所用软件为 *transeq*

相似性比对

- 利用needle比较将上述两**基因序列**相似性：

Pairwise Alignment Result

LENGTH	SCORE	IDENTITY	SIMILARITY	GAPS
1725	8771.0	1521/1725 (88.2%)	1521/1725 (88.2%)	162/1725 (9.4%)

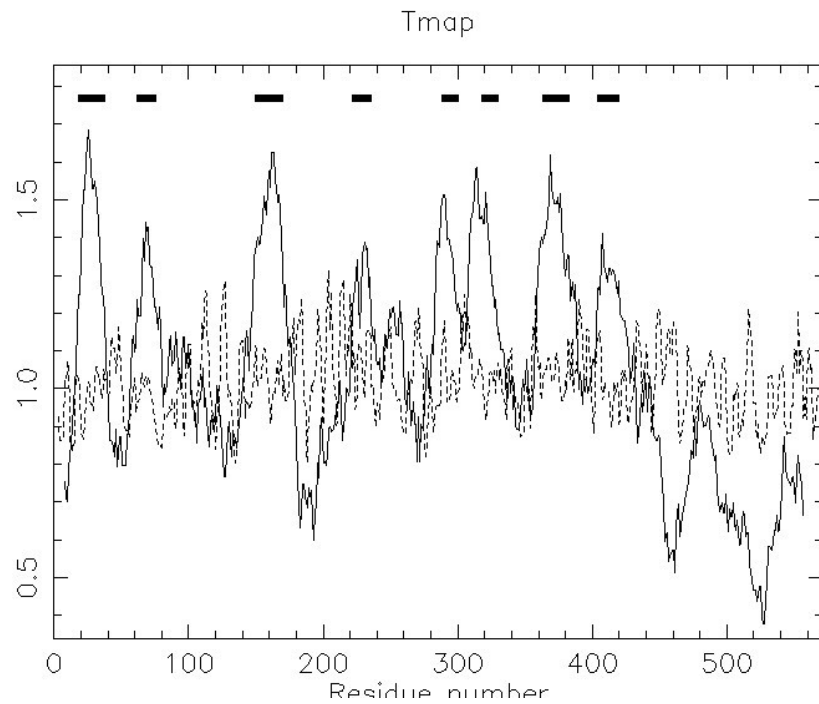
- 比较**蛋白序列**：

Pairwise Alignment Result

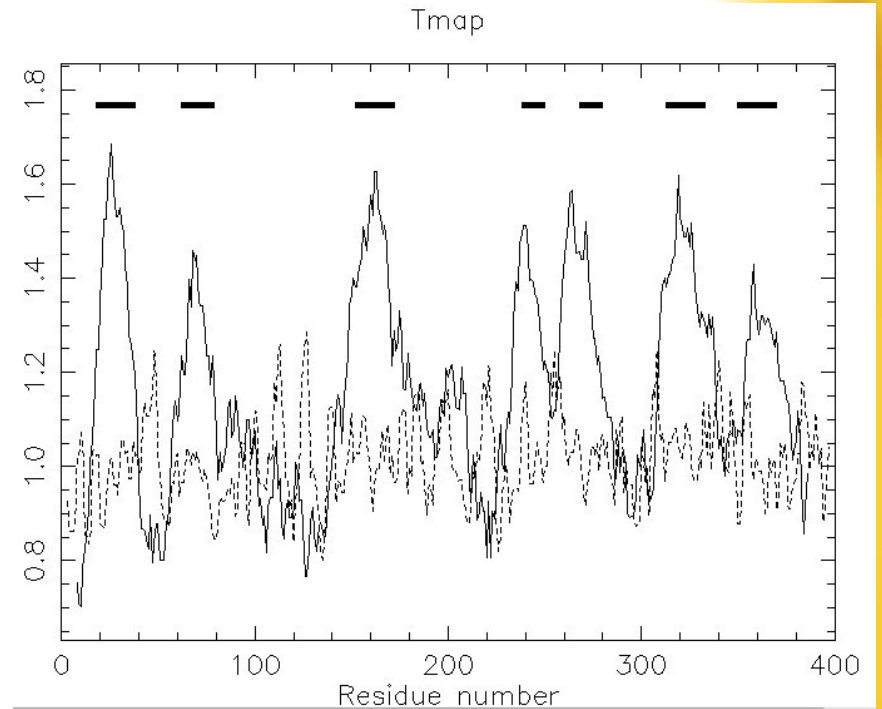
LENGTH	SCORE	IDENTITY	SIMILARITY	GAPS
575	2609.0	505/575 (87.8%)	511/575 (88.9%)	55/575 (9.6%)

- 对两个蛋白进行跨膜区预测

*FJ713541*对应蛋白:

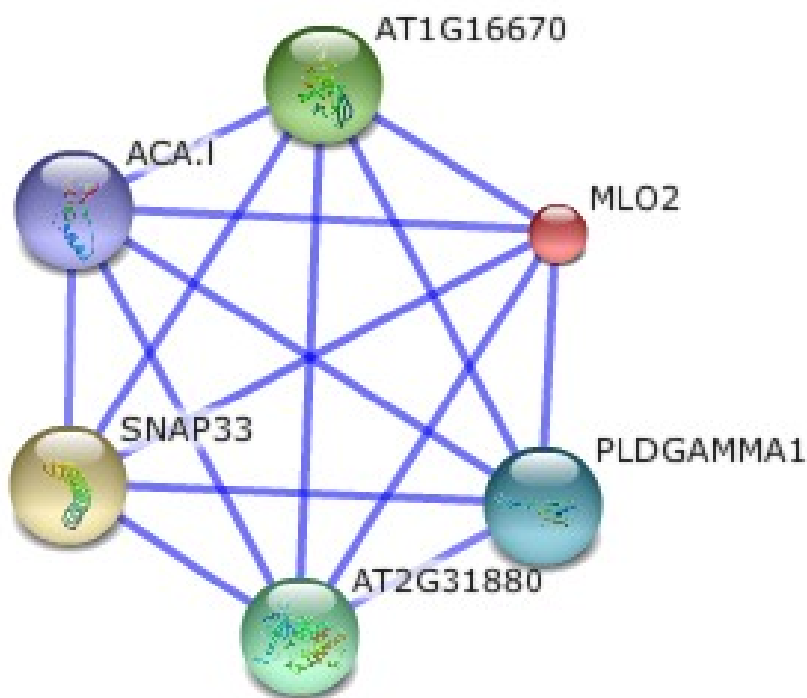


*cucumber mlo*对应蛋白:



在Swiss-Mod1e数据库中未能创建出上述两个蛋白的三维结构

找到拟南芥中与此蛋白相似的蛋白Mlo2，并分析其在细胞中与其相互作用的蛋白



SNAP33 : SOLUBLE N-ETHYLMALEIMIDE-SENSITIVE FACTOR ADAPTOR PROTEIN 33

可溶性n-乙基马来酰亚胺敏感性因子受体蛋白

AT1G16670: protein kinase family protein

(蛋白激酶家族蛋白)

AT2G31880:leucine-rich repeat transmembrane protein kinase

(富含亮氨酸重复片段的跨膜蛋白激酶)

- 接下来的工作：

- 1、首先可以以这个基因的序列设计分子标记，做荧光定量反转录PCR，检测此基因在抗病与感病植株中表达量的差异。

- 2、拟从克隆出黄瓜中 *cucumber mlo* 基因入手，将该基因转入到抗白粉病黄瓜品系中，从功能表达的角度来验证该基因是否在黄瓜感病过程中发挥作用。

感谢罗老师的认真指导！

谢谢大家！！！！