

玉竹蔗糖合成酶(SUS)基因家族的鉴定、表达分析及 *PoSUS1* 基因的克隆

潘根^{1,2,3}, 秦裕辉^{1,2*}, 张水寒^{1*}

1. 湖南省中医药研究院中药资源研究所, 湖南长沙 410013; 2. 湖南中医药大学中医学院, 湖南长沙 410208; 3. 中国农业科学院麻类研究所, 湖南长沙 410205

摘要: 多糖是玉竹的质量标志物, 在免疫调节、抗肿瘤等方面具有显著的药理作用。作为多糖合成的关键酶之一, 蔗糖合成酶(sucrose synthase, SUS)一直是揭示植物多糖合成的重要研究内容。基于转录组序列信息, 本研究利用生物信息学手段对玉竹 SUS 基因家族及其成员进行鉴定, 并利用荧光定量 PCR(qPCR)对其成员表达模式进行分析。结果表明: 玉竹转录组共获得 8 个具有 ORF 序列的 PoSUS 基因家族成员, 其编码蛋白质含有 111~310 个氨基酸, 分子量为 12.81~35.43 kDa, 其理论等电点为 5.83~9.18。系统进化树分析表明, 8 个 PoSUS 基因家族成员可分为 3 个亚家族, 其中第 III 亚家族基因成员数目最多。亚细胞定位预测显示大多数 PoSUS 蛋白定位在叶绿体。基因表达模式分析表明, *PoSUS1* 和 *PoSUS6* 基因在多糖积累的根茎组织中表达量最高, 且高多糖种质 HN1 中 *PoSUS1* 和 *PoSUS2* 表达量显著高于低多糖种质 AH2。此外, 本研究还从种质 HN1 和 AH2 克隆得到 *PoSUS1* 基因 CDS 序列, 其编码蛋白在 2 份种质间存在 3 处氨基酸差异, 且这些差异位于 *PoSUS1* 蔗糖合成酶结构域。本研究结果为深入研究玉竹 SUS 基因功能奠定基础, 也为玉竹药用品质形成分子机制研究提供理论依据。

关键词: 玉竹; SUS 基因家族; 表达分析; *PoSUS1*

中图分类号: S567.239 文献标识码: A

Identification and Expression Profiling of the Sucrosesynthase (SUS) Gene Family and Cloning of *PoSUS1* in *Polygonatum odoratum*

PAN Gen^{1,2,3}, QIN Yuhui^{1,2*}, ZHANG Shuihan^{1*}

1. Institute of Chinese Materia Medica, Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410013, China; 2. Colleges of Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 3. Institute of Bast Fiber Crops, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan 410205, China

Abstract: Polysaccharide is a quality marker of *Polygonatum odoratum*, which has significant pharmacological effects in immune regulation and anti-tumor. As one of the key enzymes in polysaccharide synthesis, sucrosesynthase (SUS) has always been an important research field to reveal the synthesis of plant polysaccharides. Based on transcriptom data of *Polygonatum odoratum*, the SUS gene family members were identified by bioinformatics, and their expression profiling were analyzed using qPCR. The results showed that eight *PoSUS* gene were identified, their protein ranged from 111 to 310 amino acid residues (aa) in length, and relative molecular weight varied from 12.81 kDa to 35.43 kDa, isoelectric point (pI) in the range of 5.83 to 9.18; phylogenetic analysis indicated that eight *PoSUS* genes were divided into 3 subfamily, and the subfamily III included the largest *PoSUS* genes family member; subcellular localization analysis showed that most of *PoSUS* proteins were located in chloroplast. Additionally, expression patterns analysis revealed that *PoSUS1* and *PoSUS6* genes were preferably expressed in rhizome, and the transcript levels of *PoSUS1* and

收稿日期 2023-01-12; 修回日期 2023-02-09

基金项目 湖南省科技成果转化及产业化计划项目(No. 2020SK2029); 湖南省中医药科研计划项目(No. A2022002, No. A2022005)。

作者简介 潘根(1988—), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 药用植物品种选育与遗传改良。*通信作者(Corresponding author): 张水寒(ZHANG Shuihan), E-mail: zhangshuihan0220@126.com; 秦裕辉(QIN Yuhui), E-mail: 1243695133@qq.com。

PoSUS2 were higher in high-polysaccharide cultivar HN1 than those in a low-polysaccharide cultivar AH2. In addition, the CDS of *PoSUS1* gene were cloned from HN1 and AH2, there are three amino acid difference between HN1 and AH2, which located in sucrose synthase domain. Our findings can laid a basis for the further study of functional analysis of SUS genes, and provided a theoretical basis for analyzing molecular mechanism of the formation mechanism of medicinal quality of *Polygonatum odoratum*.

Keywords: *Polygonatum odoratum*; SUS gene family; expression analysis; *PoSUS1*

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.12.012

玉竹 [*Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce] 为百合科 (Liliaceae) 黄精属 (*Polygonatum*) 植物, 为我国常见中药材之一, 广泛分布我国陕西、甘肃、青海、台湾、河南、湖北、湖南、广东等地。作为传统中药材, 玉竹具有降血糖、免疫调节、抗肿瘤、抗氧化、抗疲劳、延缓皮肤衰老等药理作用^[1-2]。玉竹多糖被认为是玉竹的主要活性成分, 含量较高, 也是发挥药理作用的有效成分之一, 同时也是衡量玉竹品质主要标准^[3-4]。鉴于玉竹多糖的重要性, 其越来越受到研究者的广泛关注。

多糖在植物体内生物合成路径主要包括 3 个步骤: 第 1 步为蔗糖经过一系列转化生成尿苷二磷酸葡萄糖 (uridine diphosphate glucose, UDP-Glc)、鸟苷二磷酸甘露糖 (guanosine diphosphate mannose, GDP-Man) 和鸟苷二磷酸岩藻糖 (guanosine diphosphate fucose, GDP-Fuc); 第 2 步为 UDP-葡萄糖转化为其他 NDP 单糖; 最后一步通过不同的糖基转移酶 (glycosyl transferases, GTs) 将 NDP 单糖从糖核苷酸供体结合到生长中的多糖聚合物中, 随后多糖聚合物从合成部位输出, 形成多糖^[5-7]。UDP-Glc 是多糖合成途径中重要前体物质, 在整个合成过程中起着至关重要的作用^[8]。

蔗糖合成酶 (sucrose synthase, SUS) 是植物多糖合成中的关键酶之一, 它包含蔗糖合成酶结构域和糖基转移酶结构域, 它主要的功能是催化蔗糖裂解为果糖和 UDP-Glc 及腺苷二磷酸葡萄糖^[9]。目前在甘草、铁皮石斛、百合、枸杞等 8 种药用植物中有蔗糖合成酶基因的相关研究报道^[10-18]。利用基因组序列信息, 在铁皮石斛鉴定出 4 个 DcSuSy 基因家族成员, 同时对这些基因在不同组织及冷胁迫下的表达模式进行了分析^[18]; *GuSUS1* 和 *GuSUS2* 是从甘草中克隆的 2 个蔗糖合成酶基因, 在甘草不同生育期其基因表达量存在差异, 同时证实 2 个基因编码的酶对蔗糖具有裂解催化作用^[10]。玉竹多糖作为玉竹发挥药理作用的主要成分之一, 其合成途径中关键酶基因 *PoSUS* 还未见相关研究报道。由于玉竹基因

组测序未完成, 本研究基于玉竹转录组序列信息, 通过生物信息学方法对 *PoSUS* 基因家族成员进行鉴定, 同时对其组织表达模式及不同多糖种质间表达量进行分析, 进一步克隆出 *PoSUS1* 的 CDS 序列, 并分析了该基因在不同种质间氨基酸序列差异。研究结果为 *PoSUS* 家族基因的生物学功能研究奠定基础, 同时为玉竹药用品质质量形成机制研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为玉竹种质猪屎尾、HN1、AH2, 种植于中国农业科学院麻类研究所望城实验基地。于玉竹膨大期分别选取猪屎尾玉竹的根茎、茎、叶组织及 HN1、AH2 玉竹的根茎, 立即放入液氮中, 用于 RNA 提取。

1.2 方法

1.2.1 *PoSUS* 基因家族的鉴定 转录组数据来源于 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/?term=SRP187533>), 其转录组数据来自成熟的根茎、叶片及茎组织^[7]。利用关键词 “sucrose synthase” 对转录组数据库中的 unigene 进行搜索, 对所有相关序列进行重复序列剔除, 利用 Pfam (<http://pfam.xfam.org/>) 在线软件对剩余序列的保守结构域进行鉴定, 去除不含蔗糖合成酶和糖基转移酶结构域的序列。进一步采用 BioXM 2.7 软件对剩余序列进行 ORF 预测。

1.2.2 *PoSUS* 蛋白基本理化性质分析 利用 ExPasy 在线软件 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 对 *PoSUS* 蛋白序列的分子量、等电点等基本理化性质进行预测; 运用 Plant-mPLoc (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>) 在线软件预测 *PoSUS* 蛋白的亚细胞定位。

1.2.3 *PoSUS* 系统进化树分析 分别从 NCBI 中下载拟南芥和水稻 SUS 基因蛋白序列, 通过 MEGA 7.0 软件中 MUSCLE 程序对包含玉竹、水稻及拟南芥 SUS 基因氨基酸进行多重序列比对。

采用 Neighbor-Joining 法构建进化树, 设定 Bootstrap 值为 1000 次重复。

1.2.4 *PoSUS* 基因组织特异性表达分析及表达模式热图绘制 参考 *PoSUS* 转录组序列信息, 利用 Primer 5 软件设计荧光定量引物 (表 1), 引物序列委托湖南擎科生物科技有限公司合成。RNA 提取参照 EASYspinPlus 多糖多酚提取试剂盒 (北京艾德莱生物科技有限公司)。使用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳和 NanoDrop 2000 超微量分光光度计进行 RNA 质量和浓度检测。利用 Evo M-MLV RT

Premix for qPCR Kit 试剂盒 (湖南艾科瑞生物工程有限公司), 将玉竹种质猪屎尾的根茎、茎、叶及种质 HN1、AH2 根茎的 RNA 反转录成 cDNA。采用 SYBR[®] Green Premix Pro Taq HS qPCR 试剂盒 (湖南艾科瑞生物工程有限公司) 进行荧光定量 PCR, 反应程序为: 95 °C 30 s, 95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 40 个循环。基因相对表达量计算方法为 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 。利用网上已公布的玉竹根、根茎和茎的转录组数据^[7], 使用 TBtools 软件绘制 *PoSUS1*~*PoSUS8* 基因表达模式热图。

表 1 本研究用于荧光定量 PCR 和基因克隆的引物

Tab. 1 Primers for quantitative real-time PCR and gene cloning used in this study

基因名称 Gene name	引物名称 Primer name	引物序列 (5'-3') Primer sequence (5'-3')	用途 Application
<i>PoSUS1</i>	PoSUS1-F	CAAGGAGGAACTTGCAGACG	荧光定量分析
	PoSUS1-R	CAGTGGCCACATGCTTTCTT	
<i>PoSUS2</i>	PoSUS2-F	GCGGTCAGCTAAGGGAATTG	荧光定量分析
	PoSUS2-R	GAGCAGAAACCCAGCGAAAT	
<i>PoSUS3</i>	PoSUS3-F	TTCCTTAACCGGCACCTCTC	荧光定量分析
	PoSUS3-R	GCGCTCAGGCTTTGTATTCT	
<i>PoSUS4</i>	PoSUS4-F	TGGAGTGGTACGGGAAGAAC	荧光定量分析
	PoSUS4-R	GCAGCTATCCATCGCATCTG	
<i>PoSUS5</i>	PoSUS5-F	GTTGCTACCTGATGCTGTGG	荧光定量分析
	PoSUS5-R	TGCAACTCGCTGGCTAATTC	
<i>PoSUS6</i>	PoSUS6-F	TTTGTTCAGCCTGCCCTCTA	荧光定量分析
	PoSUS6-R	AAATCCGCAATCAGGTCTGC	
<i>PoSUS7</i>	PoSUS7-F	GGGTTGGTTGAGTTGTACGG	荧光定量分析
	PoSUS7-R	TCTCAACTCGGCCTGTTCT	
<i>PoSUS8</i>	PoSUS8-F	GTTGCTACCTGATGCTGTGG	荧光定量分析
	PoSUS8-R	CTCGGTTCCAAGGACCTTCT	
<i>Actin</i>	actin-F	AAGTTGCTGGAATCCACGAG	荧光定量分析
	actin-R	CTCATACGATCAGCAATACC	
<i>PoSUS1</i>	PoSUS1-F	ATGGGAAGGACACCCTGCTGCAAC	基因克隆
	PoSUS1-R	TTACTCAAGAGTTGCAGCATCAAAG	

1.2.5 *PoSUS1* 基因的克隆 参考玉竹转录组数据中 *PoSUS1* 相关序列信息, 利用 Primer 5.0 软件进行基因克隆引物设计 (表 1)。以玉竹种质 HN1 和 AH2 的根茎 cDNA 为模板, 用 Apex HFHSDNA Polymerase FS Master Mix (dyeplus) 试剂盒 (湖南艾科瑞生物工程有限公司) 进行基因克隆, 扩增程序为: 94 °C 30 s, 94 °C 15 s, 55 °C 5 s, 72 °C 15 s, 30 个循环, 72 °C 2 min。PCR 产物进行 1.0% 琼脂糖凝胶电泳, 使用 Fast Pure Gel DNA Extraction Mini Kit 试剂盒进行目的条带回收 (南京诺唯赞生物科技股份有限公司)。将回收的目的条带连接到

pEASY-Blunt 载体 (北京全式金生物技术有限公司), 转化至 Trans1-T1 感受态细胞, 涂布于含卡那抗生素的 LB 培养基上进行阳性单菌落筛选, 提取质粒送至湖南擎科生物有限公司进行测序。

1.2.6 玉竹多糖含量测定 采用苯酚-硫酸法 (《中华人民共和国药典》, 2020 版) 对不同种质玉竹根茎多糖含量进行检测。首先对各组织样品进行冷冻干燥, 待干燥完全用打粉机将各组织样品打粉保存。分别取干燥的组织样品 1 g 与 100 mL 蒸馏水进行混合, 加热回流 1 h, 并用脱脂棉过滤, 重复提取 2 次, 合并滤液, 加热浓缩, 转移至 100 mL 容

量瓶中加水至刻度,精密量取 2 mL,加入 10 mL 的 95%乙醇,搅拌离心获得沉淀,将沉淀物加水溶解,置于 50 mL 容量瓶中并稀释至刻度。精密量取 2 mL 加入 1 mL 4%苯酚混合均匀,迅速加入 7 mL 硫酸,摇匀,放入 40 °C 水浴锅中保温 30 min,随后放入冰水浴 5 min 取出。用紫外分光光度计 (JASCO company, Japan) 在 490 nm 处测定样品的吸光度,重复上述实验 3 次,取平均值作为最终结果。

2 结果与分析

2.1 玉竹 PoSUS 基因家族成员的鉴定

首先利用关键词“sucrose synthase”对玉竹

转录组数据库进行搜索,然后通过 NCBI CDD 数据库对保守结构域进行预测,最终筛选出 8 条 PoSUS 蛋白序列,基因命名为 *PoSUS1~PoSUS8*。这些基因 CDS 序列全长大小范围为 336~933 bp,所编码的氨基酸数介于 111~310 aa 之间;预测的理论分子量大小范围在 12.81~35.43 kDa 之间。等电点大小范围在 5.83~9.18 之间,其中大多数 PoSUS 蛋白的等电点小于 7,显酸性。亚细胞定位预测表明, *PoSUS1* 定位在细胞核中, *PoSUS2*、*PoSUS4*、*PoSUS6* 和 *PoSUS7* 定位在叶绿体中, *PoSUS3* 在细胞核和胞质中均有定位信号, *PoSUS8* 在叶绿体、胞质、线粒体、细胞核及过氧化体中均有定位信号 (表 2)。

表 2 玉竹 PoSUS 蛋白理化性质信息

Tab. 2 Physicochemical properties of PoSUS proteins from *Polygonatum odoratum*

基因 Gene	编码区大小 CDS size/bp	氨基酸长度 Amino acid length/aa	分子量 MW/kDa	等电点 pI	亚细胞定位 Subcellular localization
<i>PoSUS1</i>	684	227	25.92	5.99	Nucleus
<i>PoSUS2</i>	603	200	22.94	5.98	Chloroplast
<i>PoSUS3</i>	336	111	12.81	6.02	Cytoplasm, Nucleus
<i>PoSUS4</i>	426	141	15.98	9.18	Chloroplast
<i>PoSUS5</i>	921	306	34.85	5.83	Chloroplast, Cytoplasm, Nucleus, Peroxisome
<i>PoSUS6</i>	534	177	20.49	9.03	Chloroplast
<i>PoSUS7</i>	483	160	18.06	5.95	Chloroplast
<i>PoSUS8</i>	933	310	35.43	6.01	Chloroplast, Cytoplasm, Mitochondrion, Nucleus, Peroxisome

2.2 PoSUS 蛋白进化树分析

为了解 PoSUS 基因家族成员的进化关系,本研究构建了包含单子叶模式植物水稻 7 个 SUS 家族成员和双子叶模式植物拟南芥 6 个家族成员在内的系统进化树。结果表明,玉竹 8 个 PoSUS 分为 3 个亚家族,其中第 I 和 II 亚家族各包含 1 个成员,第 III 亚家族包含 6 个 PoSUS 家族成员。同时也发现,第 III 亚家族成员呈现明显的单子叶植物 (水稻和玉竹) 和双子叶植物 (拟南芥) 聚类现象,6 个玉竹 PoSUS 蛋白与水稻 OsSUS 蛋白亲缘关系较近,为同一亚群,而拟南芥中 *AtSUS1* 与 *AtSUS4* 为一亚群 (图 1)。

2.3 PoSUS 组织特异性表达分析

为了研究 *PoSUS* 基因的组织表达特性,本研究分析了 *PoSUS* 基因在玉竹膨大期根茎、茎、叶等不同组织表达模式。如图 2 所示, *PoSUS* 基因家族成员在不同组织中表达模式不同, *PoSUS1* 和 *PoSUS6* 在根茎组织中表达量较高, *PoSUS4* 和

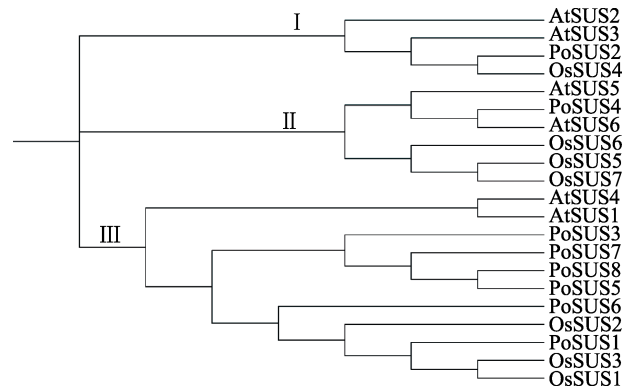


图 1 玉竹、水稻和拟南芥 SUS 基因家族系统发育树
Fig. 1 Phylogenetic tree of SUS gene family in *Polygonatum odoratum*, *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana*

PoSUS5 在叶中表达量最高, *PoSUS7* 在茎中表达量最高, *PoSUS2*、*PoSUS3*、*PoSUS8* 在根茎和茎中的表达量高于叶。利用已公布的玉竹不同组织 (根茎、根、叶) 转录组数据信息^[7], 绘制 *PoSUS1~PoSUS8* 基因表达量热图。如图 3 所示, *PoSUS1* 和 *PoSUS6* 在根茎组织中表达量最高, *PoSUS2*、

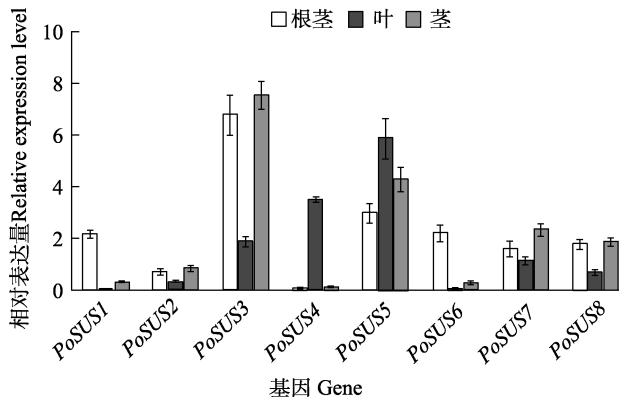


图 2 玉竹 *PoSUS* 基因家族成员组织特异性表达分析
Fig. 2 Tissue-special expression analysis of *PoSUS* gene family in *Polygonatum odoratum*

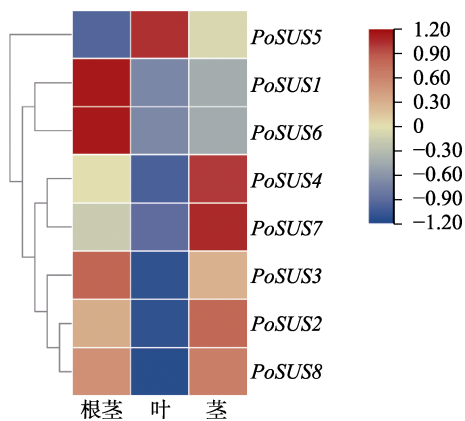
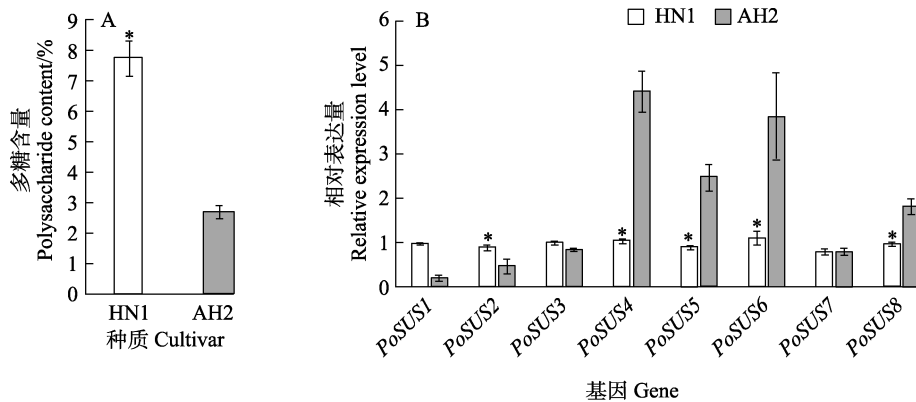


图 3 玉竹 *PoSUS* 基因家族成员组织特异性表达热图
Fig. 3 Heatmap of tissue-special expression of *PoSUS* genes in *Polygonatum odoratum*



A: 玉竹种质 HN1 和 AH2 多糖含量测定; B: *PoSUSs* 表达量分析; *表示差异显著 ($P < 0.05$)。
A: Measurement of polysaccharide content in HN1 and AH2 cultivar; B: Expression levels analysis of *PoSUS* genes; * indicates significant difference ($P < 0.05$).

图 4 不同玉竹种质中 *PoSUS* 基因家族成员表达量分析

Fig. 4 Transcript levels analysis of *PoSUS* genes in different cultivars of *Polygonatum odoratum*

3 讨论

多糖是众多中药材如玉竹、黄精、枸杞、党参等重要质量标志物，发掘和研究多糖合成关键

PoSUS4 和 *PoSUS7* 在茎中表达量最高，*PoSUS5* 在叶中表达量最高。

2.4 不同种质间 *PoSUS* 表达模式分析

为了研究 *PoSUS* 基因在玉竹多糖合成中的作用，选取不同多糖含量种质进行 *PoSUS* 基因表达量分析。玉竹种质 HN1 多糖含量约为 7.8%，显著高于种质 AH2 (图 4A)。玉竹 8 个 *PoSUS* 基因在 2 份种质间表达量存在差异，其中 *PoSUS1* 和 *PoSUS2* 在种质 HN1 中的表达量显著高于种质 AH2，而 *PoSUS4*、*PoSUS5*、*PoSUS6*、*PoSUS8* 在种质 HN1 中的表达量低于种质 AH2，*PoSUS3* 和 *PoSUS7* 基因表达量在 2 份种质中差异不显著 (图 4B)。

2.5 *PoSUS1* 基因的克隆及氨基酸序列分析

通过设计引物，分别从玉竹种质 HN1 和 AH2 中将 *PoSUS1* 基因扩增出来。*PoSUS1* 在 2 份种质中 CDS 全长均为 684 bp，其序列长度与转录组测序所获得 *PoSUS1* 序列长度一致 (图 5A)。测序分析发现，*PoSUS1* 氨基酸序列在 2 份种质中存在 3 处氨基酸差异，分别为第 21 位、第 185 位、第 199 位。在第 21 位氨基酸，种质 HN1 为组氨酸，AH2 为精氨酸；在第 185 位氨基酸，HN1 为组氨酸，AH2 为亮氨酸；在第 199 位氨基酸，HN1 为苏氨酸，AH2 为异亮氨酸，且 3 处氨基酸均位于蔗糖合成酶结构域 (图 5B)。

酶基因可为多种中药材品质形成机理的阐述奠定基础^[8]。蔗糖合成酶基因 *SUS* 是植物体内参与蔗糖代谢的关键酶之一，在调控多糖合成中起到关



M: DL5000 DNA marker; 红色框中表示的是蔗糖合成酶结构域。
M: DL5000 DNA marker; The red box indicates the sucrose synthase domain.

图 5 *PoSUS1* 基因的克隆与氨基酸序列分析

Fig. 5 Cloning and amino acid difference analysis of *PoSUS1* gene

键作用^[19]。本研究基于转录组序列信息,通过 ORF 全长预测,保守结构域的鉴定,在玉竹中首次确定了 8 个 *PoSUS* 基因。相比较于水稻、拟南芥、柑橘、石榴基因组分别编码 7、6、6、5 个 *SUS* 基因^[20-23],玉竹中鉴定出数目较多的 *SUS* 基因,但其数目少于棉花、苹果、杨树等植物^[24-26]。随着玉竹基因组测序的完成,将来可能会有更多的玉竹 *PoSUS* 基因家族成员被发现,对本研究所鉴定的 *PoSUS* 基因进行有效补充。

系统进化树分析可预测基因起源及与其他成员之间的亲缘关系。前人大量研究表明,*SUS* 基因家族成员可分为 3 个亚家族,类似结果在石榴、苹果等物种中也有相关研究报道^[23, 25]。本研究也表明,玉竹 *PoSUS* 基因家族成员可分为 3 个亚家族,且其成员主要属于亚家族 III,在亚家族 I 与亚家族 II 中仅包含 1 个成员。同时也发现,在亚家族 III 中,基因出现明显单子叶植物和双子叶植物分类现象。玉竹和水稻同为单子叶植物,玉竹 6 个 *SUS* 成员与水稻 3 个 *SUS* 成员较好聚为同一亚群,而拟南芥 *AtSUS1*、*AtSUS4* 被聚类为另一亚群。上述研究结果在其他植物 *SUS* 基因家族中也有相关报道^[24, 27-28]。

根茎为玉竹碳同化物主要存储的库组织,其玉竹多糖含量显著高于茎、叶等组织^[4, 7]。前人在不同植物中研究表明,*SUS* 基因主要在植物库组织特异性表达。玉米 *ZmSUS3* 主要在籽粒中表达,且随着籽粒成熟,其表达量逐渐升高^[28];石榴 *PgSUS1*、*PgSUS3*、*PgSUS4* 基因在果皮发育中显著上调表达^[23];木薯 *MeSUS2*、*MeSUS4*、*MeSUS6* 在其根中特异性高表达^[29]。本研究也发现 *PoSUS1*、*PoSUS3*、*PoSUS6*、*PoSUS8* 在根茎中表达量较高,其中 *PoSUS1* 和 *PoSUS6* 在根茎组织中表达量最高,此结论与前人研究结果类似^[7]。此外,*PoSUS1* 和 *PoSUS2* 在高多糖种质 HN1 中表达量显著高于低多糖种质 AH2。进一步对 *PoSUS1* 基因

进行测序发现,高多糖种质 HN1 和低多糖种质 AH2 存在氨基酸差异,且均位于 *PoSUS1* 蔗糖合成酶结构域。同时,水稻 *OsSUS3* 为玉竹 *PoSUS1* 的同源基因,亲缘关系较近,过表达 *OsSUS3* 后能促进水稻籽粒中淀粉的积累^[30]。综合基因表达量、蛋白氨基酸序列差异及其他物种中同源基因功能研究,推测 *PoSUS1* 很可能为多糖合成的关键候选基因。在今后的研究中,本课题组将利用转基因技术对该基因在玉竹多糖生物合成中的生物学功能进行进一步验证。

本研究从玉竹转录组中鉴定出 8 个 *PoSUS* 基因家族成员,其编码的氨基酸具有不同的理化性质。与拟南芥、水稻 *SUS* 蛋白构建了系统进化树,8 个 *PoSUS* 蛋白被分为 3 个亚家族,且亚家族 III 中包含 6 个 *PoSUS* 成员。*PoSUS1* 基因不仅在玉竹碳同化积累库组织根茎中表达量最高,同时其在高多糖种质的表达量显著高于低多糖种质,且其编码的蔗糖合成酶结构域在不同多糖含量种质中存在氨基酸差异。因此,*PoSUS1* 基因很可能在玉竹多糖生物合成中发挥作用。虽然该基因的生物学功能还需进一步验证,但本研究可为 *PoSUS* 候选基因功能深入研究奠定基础,为玉竹药用品质形成分子机制研究提供理论依据。

参考文献

- [1] ZHAO P, ZHAO C C, LI X, GAO Z Q, HUANG L Q, XIAO P G, GAO W Y. The genus *Polygonatum*: a review of ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2017, 214: 274-291.
- [2] ZHANG R Z, GAO X, BAI H, NING K. Traditional Chinese medicine and gut microbiome: their respective and concert effects on healthcare[J]. Frontiers in Pharmacology, 2020, 214(11): 538.
- [3] JIANG Q G, LYU Y X, DAI W D, MIAO X Y, ZHONG D W. Extraction and bioactivity of polygonatum polysaccharides[J]. International Journal of Biological Macromolecules,

- 2013, 54(3): 131-135.
- [4] 孟庆龙, 崔文玉, 刘雅婧, 金莎, 潘景芝. 玉竹的化学成分及药理作用研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2020, 54(9): 93-98.
MENG Q L, CUI W Y, LIU Y J, JIN S, PAN J Z. Advances in studies on chemical constituents and pharmacological effects of *Polygonatum odoratum*[J]. Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine, 2020, 54(9): 93-98. (in Chinese)
- [5] WANG S Q, WANG B, HUA W P, NIU J F, DANG K K, QIANG Y, WANG Z Z. *De novo* assembly and analysis of *Polygonatum sibiricum* transcriptome and identification of genes involved in polysaccharide biosynthesis[J]. International Journal of Molecular Science, 2017, 18(9): 1950.
- [6] NIU J F, ZHAO G M, MI Z Y, CHEN L J, LIU S, WANG S Q, WANG D H, WANG Z Z. *De novo* sequencing of *Bletilla striata* (Orchidaceae) transcriptome and identification of genes involved in polysaccharide biosynthesis[J]. Genetics and Molecular Biology, 2020, 43(3): e20190417.
- [7] ZHANG S X, SHI Y Y, HUANG L Q, WANG C K, ZHAO D R, MA K L, WU J W, PENG D Y. Comparative transcriptomic analysis of rhizomes, stems, and leaves of *Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce reveals candidate genes associated with polysaccharide synthesis[J]. Gene, 2020, 744: 144626.
- [8] 李晓岗, 张雪, 俞捷, 王希付, 代红洋, 陈嘉伟, 许均博, 曹冠华, 贺森. 药用植物质量标志物多糖生物合成通路及关键酶研究进展[J]. 中草药, 2021, 52(15): 4752-4762.
LI X G, ZHANG X, YU J, WANG X F, DAI H Y, CHEN J W, XU J B, CAO G H, HE S. Research progress on biosynthesis pathway of quality marker polysaccharide and involved key enzymes for medicinal plants[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(15): 4752-4762. (in Chinese)
- [9] XU X Y, YANG Y H, LIU C X, SUN Y M, ZHANG T, HOU M L, HUANG S Z, YUAN H Y. The evolutionary history of the sucrose synthase gene family in higher plants[J]. BMC Plant Biology, 2019, 19(1): 566-579.
- [10] ZHANG L, GAO Y N, LIU X F, GUO F, MA C X, LIANG J H, FENG X D, LI C. Mining of sucrose synthases from *Glycyrrhiza uralensis* and their application in the construction of an efficient UDP-recycling system[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(42): 11694-11702.
- [11] 张园, 刘正杰, 徐绍忠, 赵明富, 林春, 文国松. 铁皮石斛蔗糖合成酶基因序列特征与表达模式分析[J]. 分子植物育种, 2018, 16(20): 6631-6638.
ZHANG Y, LIU Z J, XU S Z, ZHAO M F, LIN C, WEN G S. Analysis of the sequence characteristics and expression pattern of sucrose synthase gene in *Dendrobium officinale*[J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(20): 6631-6638. (in Chinese)
- [12] 闻奋亮, 隆小华, 岳杨, 何腾飞, 高秀美, 周兆胜. 菊芋蔗糖代谢相关产物与关键酶基因对高温的响应[J]. 生态学杂志, 2020, 39(1): 82-92.
WEN F L, LONG X H, YUE Y, HE T F, GAO X M, ZHOU Z S. Responses of related products and key enzyme genes in sucrose metabolic pathway to high temperature in *Jerusalem artichoke*[J]. Chinese Journal of Ecology, 2020, 39(1): 82-92. (in Chinese)
- [13] 李丽娜. 虎眼万年青中蔗糖合酶基因的克隆、表达及功能鉴定[D]. 北京: 北京协和医学院, 2016.
LI L N. cDNA cloning, expression and functional identification of sucrose synthase from *Ornithogalum caudatum*[D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2016. (in Chinese)
- [14] 程金云. 兰州百合蔗糖代谢关键酶基因的克隆及原核表达[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2017.
CHEN J Y. Gene cloning and prokaryotic expression of key enzymes of sucrose metabolism in *Lilium davidii* var. *unicolor*[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2017. (in Chinese)
- [15] BALK P A, DE BOER A D. Rapid stalk elongation in tulip (*Tulipa gesneriana* L. cv. *apeldoorn*) and the combined action of cold-induced invertase and the water-channel protein gamma TIP[J]. Planta, 1999, 209(3): 346-354.
- [16] HOHNJEC N, BECKER J D, PUHLER A, PERLICK A M, KUSTER H. Genomic organization and expression properties of the *MtSucSI* gene, which encodes a nodule-enhanced sucrose synthase in the model legume *Medicago truncatula*[J]. Molecular and General Genetics, 1999, 261(3): 514-522.
- [17] 王丽娟, 石晶, 王彦才. 枸杞蔗糖合成酶基因 cDNA 分离及表达分析[J]. 北方园艺, 2013(21): 105-109.
WANG L J, SHI J, WANG Y C. Isolation and expression analysis of sucrose synthase gene cDNA from *Lycium barbarum* L.[J]. Northern Horticulture, 2013(21): 105-109. (in Chinese)
- [18] 刘博婷, 吴洋, 刘宇, 理雅, 唐演儿, 陈堰珊, 于白音, 刘羽佳. 铁皮石斛蔗糖合成酶基因家族鉴定及表达分析[J/OL]. 分子植物育种: 1-14 [2023-11-14]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220305.1801.015.html>.
LIU B T, WU Y, LIU Y, LI Y, TANG Y E, CHEN Y S, YU B Y, LIU Y J. Identification and expression analysis of sucrose synthase family in *Dendrobium catenatum* Lindl. [J/OL]. Molecular Plant Breeding: 1-14 [2023-11-14]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220305.1801.015.html>. (in Chinese)
- [19] STEIN O, GRANOT D. An overview of sucrose synthases in plants[J]. Frontier in Plant Science, 2019, 8(10): 95.
- [20] LIU Z M, JIANG S, JIANG L L, LI W J, TANG Y Q, HE W,

- WANG M L, XING J J, CUI Y C, LIN Q L, YU F, WANG L. Transcription factor *OsSGL* is a regulator of starch synthesis and grain quality in rice[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2022, 73(11): 3417-3430.
- [21] BAUD S, VAULTIER M N, ROCHAT C. Structure and expression profile of the sucrose synthase multigene family in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2004, 55(396): 397-409.
- [22] ISLAM M Z, HU X M, JIN L F, LIU Y Z, PENG S A. Genome-wide identification and expression profile analysis of citrus sucrose synthase genes: investigation of possible roles in the regulation of sugar accumulation[J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e113623.
- [23] LIU L, ZHENG J. Identification and expression analysis of the sucrose synthase gene family in pomegranate (*Punica granatum* L.)[J]. *Peer J*, 2022, 10(10): e12814.
- [24] CHEN A Q, HE S E, LI F F, LI Z, DING M Q, LIU Q P, RONG J K. Analyses of the sucrose synthase gene family in cotton: structure, phylogeny and expression patterns[J]. *BMC Plant Biology*, 2012, 12: 85-92.
- [25] TONG X L, WANG Z Y, MA B Q, ZHANG C X, ZHU L C, MA F W, LI M J. Structure and expression analysis of the sucrose synthase gene family in apple[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2018, 17(4): 847-856.
- [26] AN X M, CHEN Z, WANG J C, YE M X, JI L X, WANG J, LIAO W H, MA H D. Identification and characterization of the *Populus* sucrose synthase gene family[J]. *Gene*, 2014, 539(1): 58-67.
- [27] KORAMUTLA M K, RAM C, BHATT D, ANNAMALAI M, BHATTACHARYA R. Genome-wide identification and expression analysis of sucrose synthase genes in allotetraploid *Brassica juncea*[J]. *Gene*, 2019, 707: 126-135.
- [28] CARLSON S J, CHOUREY P S, HELENTJARIS T, DATTA R. Gene expression studies on developing kernels of maize sucrose synthase (*SuSy*) mutants show evidence for a third *SuSy* gene[J]. *Plant Molecular Biology*, 2002, 49(1): 15-29.
- [29] HUANG T, LUO X, FAN Z, YANG Y, WAN W. Genome-wide identification and analysis of the sucrose synthase gene family in cassava (*Manihot esculenta* Crantz)[J]. *Gene*, 2021, 769: 145191-145202.
- [30] FAN C, WANG G, WANG Y, ZHANG R, WANG Y T, FENG S Q, LUO K M, PENG L C. Sucrose synthase enhances hull size and grain weight by regulating cell division and starch accumulation in transgenic rice[J]. *International Journal of Molecular Science*, 2019, 20(20): 4971-4988.