

番茄 (*Solanum lycopersicum*) 果胶酸裂解酶 P56 在大肠杆菌中的重组表达

赵庆新^{1,2**}, 王鑫^{1**}, 张宇玲¹, 袁生^{1*}

(1. 南京师范大学生命科学学院微生物工程重点实验室, 南京 210046; 2. 盐城师范学院生命科学与技术学院, 江苏盐城 224002)

摘要: 果胶酸裂解酶 P56 在番茄花粉管伸长过程中起着重要的作用, 为了制备番茄 P56 蛋白的抗体, 进行番茄花粉管萌发过程中 P56 蛋白的免疫组织化学研究, 对 P56 基因在大肠杆菌系统的重组表达进行了研究。先采用 Overlap-PCR 的方法, 从番茄基因组 DNA 中克隆了成熟 P56 蛋白的 cDNA 序列 (LAT56), 再构建重组表达质粒 pET28a(+)-LAT56, 转化大肠杆菌 BL21-CodenPlus (DE3)-RIL, 得到了重组表达工程菌 pET-28a(+)-LAT56-BL21-CodenPlus (DE3)-RIL。在 0.5 mmol/L IPTG、15℃ 和 180 r/min 条件下, 经过 60 h 的诱导培养, 重组蛋白表达量为细胞总蛋白的 30% 左右, 主要以包涵体形式存在, 重组蛋白经 Ni²⁺-nitrilotriacetate-agarose 亲和柱层析, 得到了 SDS-PAGE 显示为单一蛋白带的纯化蛋白。

关键词: 番茄; 果胶酸裂解酶 (P56); 大肠杆菌; 表达

中图分类号: Q942.6

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2007)06-0539-05

Expression of P56 Pectate Lyase from *Solanum lycopersicum* in *Escherichia coli*

ZHAO Qing-Xin^{1,2**}, WANG Xin^{1**}, ZHANG Yu-Ling¹, YUAN Sheng^{1*}

(1. Key Lab for Microbial Technology in the College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China;

2. College of Life Science and Biotechnology, Yancheng Teachers College, Yancheng, Jiangsu 224002, China)

Abstract: P56 pectate lyase play an important role during the extension of pollen tube. In order to obtain the antibody of P56 for the study of action mechanism and distribution of P56 along pollen tube, the recombinant expression of P56 was carried out in *Escherichia coli*. The cDNA coding mature P56 without signal peptide was amplified from *Solanum lycopersicum* by Overlap-PCR. The amplified fragment was ligated to pET-28a(+) expression vector, then transformed into *Escherichia coli* BL21-CodenPlus (DE3)-RIL. The expression of P56 was applied at 0.5 mmol/L IPTG, 15℃ and 180 r/min for 60 h. The recombinant protein reached about 30% of total cell proteins and existed as inclusion body in pET-28a(+)-LAT56-BL21-CodenPlus (DE3)-RIL cell. Through Ni²⁺-nitrilotriacetate-agarose affinity chromatography, the recombinant P56 was purified to homology based on SDS-PAGE.

Key words: *Solanum lycopersicum*; Pectate lyase (P56); *Escherichia coli*; Expression

果胶裂解酶含果胶酸裂解酶 (pectate lyase, EC 4.2.2.2) 和果胶酯裂解酶 (pectin lyase, EC 4.2.2.10) 两类, 植物来源的果胶裂解酶为果胶酸裂解酶^[1-8]。

1989 年, 来自植物的果胶酸裂解酶类似序列 P56 首次在番茄 (*Solanum lycopersicum*) 花粉中被发现^[7], 自那以后, 很多类似序列在其它植物的花粉、花粉管、花柱道等组织中不断被发现^[2,9]。在植物

花粉管萌发和延伸过程中, 果胶酶在促进花粉萌发、降解花柱道细胞壁展、促进花粉管延伸方面具有重要的意义^[9-11]。Parre 和 Geitmann 报道外源的微生物果胶酶在适当的浓度下对番茄的花粉管伸长具有显著的促进作用^[12]。为了进一步研究果胶酶和果胶在花粉管伸长过程中的作用机理, 前人对花粉管和花柱道中的果胶分布进行了免疫组织化学研究^[13], 但对果胶酸裂解酶等果胶酶的免疫组织化学

收稿日期: 2007-04-11, 修回日期: 2007-07-27。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30170005); 江苏省自然科学基金项目 (BK2005136); 江苏省教育厅高校自然科学研究项目 (07KJD180237)。

作者简介: 赵庆新 (1966 -), 男, 博士, 副教授, 从事分子酶学和酶工程研究; 王鑫 (1982 -), 男, 硕士, 研究方向为酶工程。

* 通讯作者 (E-mail: yuansheng@njnu.edu.cn)。

** 同为第一作者。