

• 药材与资源 •

人参质体 ATP/ADP 转运蛋白基因 PgAATP1 的克隆及表达分析

陈 静^{1,2}, 李 纯^{1,2#}, 肖逸凡², 孙春玉^{1,2}, 王艳芳^{1,3}, 王康宇^{1,2}, 赵明珠^{1,2}, 王 义^{1,2*}, 张美萍^{1,2*}

1. 吉林农业大学 人参基因资源工程研究中心, 吉林 长春 130118

2. 吉林农业大学生命科学学院, 吉林 长春 130118

3. 吉林农业大学中药材学院, 吉林 长春 130118

摘要: 目的 克隆人参 *Panax ginseng* 中质体 ATP/ADP 转运蛋白基因 (ATP/ADP transporter protein, AATP), 为深入研究其在人参中的生物学功能奠定基础。方法 利用人参 14 个组织部位转录组测序的转录组数据库, 通过与 NCBI 下载的其他植物中 AATP 的 mRNA 序列进行本地 Blast 比对, 从中筛选出质体 ATP/ADP 转运蛋白基因。利用 PCR 技术克隆获得该基因的全长, 通过生物信息学软件分析该基因编码蛋白的信息。利用人参 14 个组织部位的转录组数据库分析该基因在人参不同组织中的表达模式, 并利用实时荧光定量 PCR 检测茉莉酸甲酯处理条件下该基因的表达模式。结果 获得人参 AATP1 基因全长 cDNA, 命名为 PgAATP1, 该基因长度为 1 866 bp, 编码 621 个氨基酸, 蛋白质相对分子质量为 67 897.23, 等电点为 9.58。该蛋白与其他物种中的质体 ATP/ADP 转运蛋白比较类似, 分析发现 PgAATP1 在人参中所有组织中表达量均比较高, 在果肉和叶片中表达量最高。实时荧光定量 PCR 检测发现 PgAATP1 基因在茉莉酸甲酯处理条件下表达持续上调。结论 获得 PgAATP1 基因全长 cDNA 序列, 该基因在淀粉合成旺盛的组织中表达量较高, 且响应茉莉酸甲酯处理。

关键词: 人参; 质体 ATP/ADP 转运蛋白; 生物信息学; 表达分析; 茉莉酸甲酯

中图分类号: R282.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)18-4411-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.18.022

Cloning and expression analysis of ATP/ADP transporter protein gene PgAATP1 in *Panax ginseng*CHEN Jing^{1,2}, LI Chun^{1,2}, XIAO Yi-fan², SUN Chun-yu^{1,2}, WANG Yan-fang^{1,3}, WANG Kang-yu^{1,2}, ZHAO Ming-zhu^{1,2}, WANG Yi^{1,2}, ZHANG Mei-ping^{1,2}

1. Research Center for Ginseng Genetic Resources, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

2. College of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

3. College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

Abstract: Objective To clone the full-length cDNA of the ATP/ADP transporter protein (AATP) genes in *Panax ginseng* to provide resources and some knowledge necessary for the further gene function study. **Methods** The mRNA sequence of the AATP genes in other plants were downloaded on the website of NCBI and used to perform local Blast alignment in the transcriptome of Jilin ginseng from 14 tissues. The AATP gene in *Panax ginseng* was cloned by PCR, and analyzed using bioinformatics software and online resources. The expression pattern of PgAATP1 gene in 14 tissues of *Panax ginseng* was analyzed using the expression profile of transcriptome and its expression level under methyl jasmonate was detected by quantitative real-time PCR. **Results** A full-length cDNA sequence was successfully cloned from *Panax ginseng* and named as PgAATP1, which was 1866 bp in length and encoded 621 amino acids. The relative molecular mass of PgAATP1 protein calculated was 67 897.23, and the isoelectric point calculated was 9.58.

收稿日期: 2019-04-03

基金项目: 国家“863”计划项目 (2013AA102604); 吉林省发改委-吉林省农产业创新专项资金项目 (2016C04); 吉林省科技厅自然科学基金项目 (20180101027JC); 吉林省科技厅自然科学基金项目 (20190201264JC)

作者简介: 陈 静 (1987—), 女, 讲师, 研究方向为植物分子生物学。E-mail: chen316@nenu.edu.cn

*通信作者 王 义 (1964—), 男, 教授, 硕士生导师, 主要从事药用植物细胞工程、药用植物种质资源创新和开发研究。

E-mail: Wanglaoshi0606@163.com

张美萍 (1964—), 女, 教授, 博士生导师, 主要从事植物系统基因组学与系统生物学研究。E-mail: mpzhang@exchange.tamu.edu

#并列第一作者 李 纯, 女, 硕士研究生, 研究方向为细胞生物学。E-mail: 475261250@qq.com

It was found that the protein was similar to the plastid AATP in other species. The expression of this gene was high in all tissues but higher in fruit flesh and leaf blade, and the expression of PgAATP1 gene was up-regulated by methyl jasmonate. **Conclusion** We have obtained the full-length of PgAATP1 gene. This gene expressed higher in tissues of vigorous starch synthesis and responding to methyl jasmonate.

Key words: *Panax ginseng* C. A. Meyer; ATP/ADP transporter protein; bioinformatics; expression profile analysis; methyl jasmonate

腺嘌呤核苷三磷酸 (adenosine triphosphate, ATP), 也被称为腺苷三磷酸, 是由 1 分子腺嘌呤、1 分子核糖和 3 分子的磷酸基团所组成的高能磷酸化合物。作为细胞内最直接的能源, ATP 可以传递和储存化学能, 为机体各类化学反应提供能源保障。在自养生物的细胞中, ATP 可在叶绿体和线粒体中合成, 而异氧生物的细胞中仅有线粒体能够合成 ATP, 然而, ATP 在细胞中的分布非常广泛, 因此, 细胞中一定存在将 ATP 运输到不同位置的高效机制。在线粒体内膜上, 存在大量的 ADP/ATP 转运蛋白 (ADP/ATP carrier, AAC), 其能够将线粒体中经氧化磷酸化产生的 ATP 转运到细胞质, 还能将细胞质中的腺苷二磷酸 (ADP) 转运到线粒体中^[1]。除了线粒体存在 AAC 外, 质体内膜上也存在质体 ATP/ADP 转运蛋白 (ATP/ADP transporter protein, AATP), 其作用方式与 AAC 正好相反, 它能结合细胞质中高浓度的 ATP, 将其转运到质体内, 还能将质体中 ADP 转移释放到质体膜外。众所周知, 质体包括叶绿体、白色体、有色体和淀粉体, 除了叶绿体可通过自身光合作用产生 ATP, 其他质体均需要从质体外环境即细胞质中获得 ATP, 因此, AATP 对于质体内各种生理代谢反应均起到至关重要的作用。

早在 1969 年, AATP 就在菠菜的叶绿体中被发现^[2], 除了叶绿体, 在其他质体 (如白色体、有色体和淀粉体) 中也发现了 AATP 的存在^[3]。在模式植物拟南芥中, AATP 的研究开始的较早^[4], Mikami 等^[5]首先在拟南芥中成功克隆得到 1 条含有 12 个跨膜螺旋结构的 AATP1, 随后, Möhlmann 等^[6]又在拟南芥中发现了和 AATP1 高度同源的另一条 AATP 基因, 并命名为 AATP2。然而, 鉴于该蛋白具有转运 ATP 的重要功能, 其他植物, 尤其是农作物中 AATP 的生理功能也受到学者们的极大关注^[7-9]。在马铃薯^[10]、甘薯^[11]、玉米^[12]和水稻^[13]等农作物中, AATP 基因表达量的升高能提高植物中淀粉的含量, 有的作物中 AATP 基因的超表达还促进作物籽粒成熟和物质积累。目前, 关于 AATP 的生理功能的报道主要集中在淀粉积累方面, AATP 在其他方

面的功能还鲜有报道。然而, AATP 是所有质体中转运 ATP 和 ADP 所必须的转运蛋白, 其功能不应该只限定于促进淀粉合成。

人参 *Panax ginseng* C. A. Meyer 为五加科人参属多年生草本植物, 是驰名中外的“百草之王”。我国人参的主产地为吉林省, 人参产业已成为吉林省重要的支柱产业之一。人参中主要活性物质有人参皂苷、人参多糖、挥发油、维生素和低分子肽等, 因而人参具有诸多药理活性, 如能调节血糖、血压、提高免疫力、抗肿瘤、抗休克及抗动脉粥样硬化等作用, 目前, 人参已广泛应用于医药、食品和化妆品等多个领域。在人参中, 上述活性成分的合成过程大多都需要 ATP 的供应, 因此, 质体中相关活性物质的合成与 AATP 必然具有相关性。然而, 在人参中关于 AATP 基因及其功能的研究还未见报道。本研究以实验室前期对吉林人参 14 个组织部位转录组测序所获得 248 993 个 unigenes 的数据库为基础, 通过其他植物中 AATP 的 mRNA 序列与该数据库本地 Blast 异源比对, 最终选取 comp61474_c0_seq1 基因序列, 利用分子生物学手段, 设计特异性引物克隆出人参 AATP 基因 (PgAATP1), 并对该基因进行相关生物信息学分析及表达分析, 以期为进一步研究该基因的生物学功能奠定基础。

1 材料与数据

本实验所用人参品种为吉林农业大学王义教授鉴定的人参“大马牙” *Panax ginseng* C. A. Meyer, 提取 RNA 所用人参 14 个组织部位的混合样由吉林省人参基因资源开发与利用工程研究中心提供。本实验所用数据来自本实验室前期对吉林人参 14 个组织部位 (须根、支根、根皮、根心、芦头、芦芋、茎、大叶柄、小叶柄、叶片、果柄、果茎、果肉、种子) 转录组测序所获得 248 993 个 unigenes 数据库^[14]。

2 方法

2.1 RNA 提取与 cDNA 的获得

将吉林省人参基因资源开发与利用工程研究中心保存的吉林人参 14 个组织部位的混合样品置于

液氮中充分研磨,按照 OminiPlant RNA 提取试剂盒(康为世纪)方法提取混合样品的总 RNA。之后,利用反转录试剂盒(Takara 公司),按照说明书方法将上述 RNA 反转录为 cDNA,保存于-20 °C 冰箱备用。

2.2 PgAATP1 基因的克隆

在 NCBI 网站下载其他植物中 AATP 基因的 mRNA 序列,共获得 51 条序列,如 AY587008.1、AY866478.1、AY098893.1、DQ782743.1、NM_120613.5 和 NM_180440.2 等。将上述 mRNA 序列在吉林人参 14 个组织部位转录组数据库中进行本地 Blast 异源比对,得到了转录本 comp61474_c0_seq1,利用 Perl 软件将该转录本的序列调取出来。之后,利用 Primer 5.0 软件设计目的片段的特异性上下游引物 PgAATP1-F (5'-TGAAGGGACTCAGAGAGATAGGG-3') 和 pPgAATP1-R (5'-TTAAGAGGAACTTCCTGTCTGAGTC-3')。以人参 14 个组织部位混合样品的 cDNA 第 1 链为模板进行 PCR 扩增,反应程序:95 °C 预变性 4 min; 95 °C 变性 30 s; 59 °C 退火 30 s; 72 °C 延伸 60 s; 72 °C 后延伸 10 min。将上述 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳后,利用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(天根生化科技有限公司),依据说明书回收目的 DNA 片段,将其连接到克隆载体 pGM-T (Takara),转化大肠杆菌后经抗性筛选并进行菌液 PCR 验证,将含有与目的片段大小一致的菌液送至长春库美生物科技有限公司进行测序,最终获得 PgAATP1 基因全长序列。

2.3 PgAATP1 蛋白的生物信息学分析

利用在线网站资源和软件对克隆所得 PgAATP1 基因进行生物信息学分析,主要分析网站和软件包括:NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>); ProtParam tool (<http://web.expasy.org/protparam/>); SOPMA (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html); SWISS-MODEL

(<http://www.swissmodel.expasy.org/>); NetPhos 2.0 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>); SignalP (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>); WoLFPSORT II (<http://www.genscript.com/wolfpsort.html>); 10.DNAMAN (Version 6)。

2.4 PgAATP1 基因的同源性分析

将前期克隆得到的 PgAATP1 基因的氨基酸序列与从 NCBI 中下载的其他 13 种植物的 AATP 蛋白氨基酸序列进行同源性分析,利用邻接法(Neighbor Joining Method, NJ)构建进化树,进化树构建所用软件为 MEGA (Version 5.05), bootstrapping 参数为 1 000 个重复。

2.5 PgAATP1 基因的表达分析

利用 Perl 软件从吉林人参 14 个组织部位转录组数据库中调取 PgAATP1 基因在人参 14 个组织部位中的表达量,并利用 EXCEL 绘制成图。根据克隆得到的 PgAATP1 基因 CDS 序列及选取的内参 GADPH 基因序列,设计特异性引物(表 1)。利用本实验室保存的人参发状根为材料,在发状根生长的第 24 天加入 100 μmol/L 茉莉酸甲酯,处理 6、12、24、48、96、144、192、240 h 后分别取处理组和对照组样品并冻存于-80 °C 冰箱中。分别提取处理组和对照组的 RNA,逆转录为 cDNA 作为模板,利用设计好的特异性引物进行实时荧光定量 qPCR,本研究所用仪器为 ABI 7500 Real-Time-qPCR 系统(Thermo Fisher Scientific),反应体系为模板 1 μL; SYBR Green master mix 5 μL; 2.5 μmol/L 上游引物 0.4 μL; 2.5 μmol/L 下游引物 0.4 μL; ddH₂O 3.2 μL,反应条件为 95 °C、60 s; 95 °C、5 s; 60 °C、60 s; 95 °C、15 s; 第 2~3 步 40 次重复。

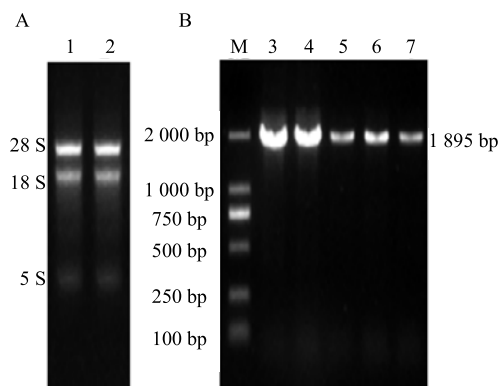
3 结果与分析

3.1 PgAATP1 基因全长 cDNA 的获得

利用宝生物的 RNAiso Plus 试剂盒提取人参 14 个组织部位的混合样品的总 RNA,图 1-A 为提取的总 RNA 琼脂糖凝胶电泳图,28 S 和 18 S 的条带清

表 1 实时荧光定量 PCR 所用引物
Table 1 Primers used for real time-qPCR

引物名称	引物序列 (5'→3')	扩增长度/bp	退火温度/°C
PgAATP1-RT-F	TGAAGGGACTCAGAGAGATAGGG	145	60
PgAATP1-RT-R	TTAAGAGGAACTTCCTGTCTGAGTC		
PgGADPH-F	TGGAGCTGACTTTGTGGTGGA	133	60
PgGADPH-R	TGCTCCCATGTTTGTGTAGGTG		



1~2-RNA M-Marker 3~7-全长片段连接 pGM-T 的菌液 PCR

1—2-RNA M-Marker 3—7-result of PgAATP1 full sequence PCR

图 1 人参 14 个组织部位混合样品提取的 RNA (A) 和 PgAATP1 (B) 全长基因的菌液 PCR

Fig. 1 PCR of RNA extracted from 14 tissue sites of ginseng (A) and PgAATP1 full sequence (B)

晰没有拖尾且 28 S 的亮度比 18 S 的亮, 5 S 的比较暗, 可以进一步用于目的基因的克隆。总 RNA 经过逆转录得到 cDNA, 以 cDNA 为模板加入上游引物 PgAATP-F 和下游引物 PgAATP-R 进行 PCR, 得到一条长度为 1 895 bp 的序列 (图 1-B), 序列见图 2。

3.2 PgAATP1 蛋白生物信息学分析

利用 ProtParam 对 PgAATP1 所翻译蛋白进行理化性质分析, 该蛋白质由 621 个氨基酸组成, 其中氨基酸含量最高和最低的分别为亮氨酸 (12.7%) 和组氨酸 (5.0%, 图 2-A), 其分子式为

$C_{3165}H_{4939}N_{767}O_{833}S_{26}$, 相对分子质量为 67 897.23, 等电点 (pI) 为 9.58, 不稳定指数为 27.21, 说明该蛋白不稳定, 亲水指数为 0.378, 为疏水性蛋白。SOPMA 预测发现 PgAATP1 蛋白质的二级结构包括 α 螺旋 38.16%、 β 转角 10.79%、延伸链 19.97% 和无规卷曲 31.08%。通过 TMHMM Server v. 2.0 在线软件预测发现 PgAATP1 蛋白具有 11 个跨膜螺旋结构。NetPhos 2.0 Server 预测表明 PgAATP1 蛋白的磷酸化位点预测值超过 0.5 的丝氨酸有 32 个、苏氨酸有 18 个、酪氨酸有 5 个 (图 2-B)。利用 SWISS-MODEL 在线软件预测 PgAATP1 蛋白的三级结构, 该蛋白的结构呈现较为对称分布, 且跨膜螺旋围成了一个中央空腔 (图 2-C), 与拟南芥 *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh 基本一致。利用 SignalP 在线软件预测蛋白信号肽, 结果 PgAATP1 蛋白没有检测到信号肽, 说明该蛋白不是分泌蛋白。再通过 WOLFPSORT II 对 PgAATP1 蛋白进行在线亚细胞定位预测, 预测结果为该蛋白定位于质体中。

3.3 PgAATP1 蛋白同源性分析

利用 DNAMAN 软件对 PgAATP1 及其他植物中 AATP 蛋白的氨基酸序列进行比对分析, 相似性比较如图 3 所示。

利用进化树分析人参中 AATP 蛋白序列与其他植物中的 AATP 蛋白进行同源性比较, 分析发现人

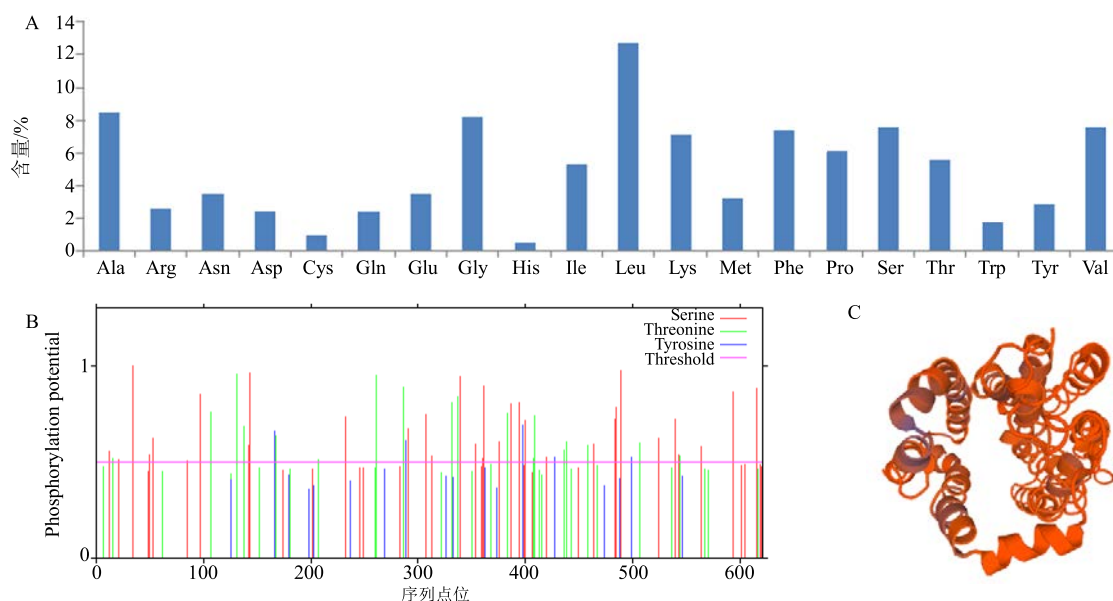
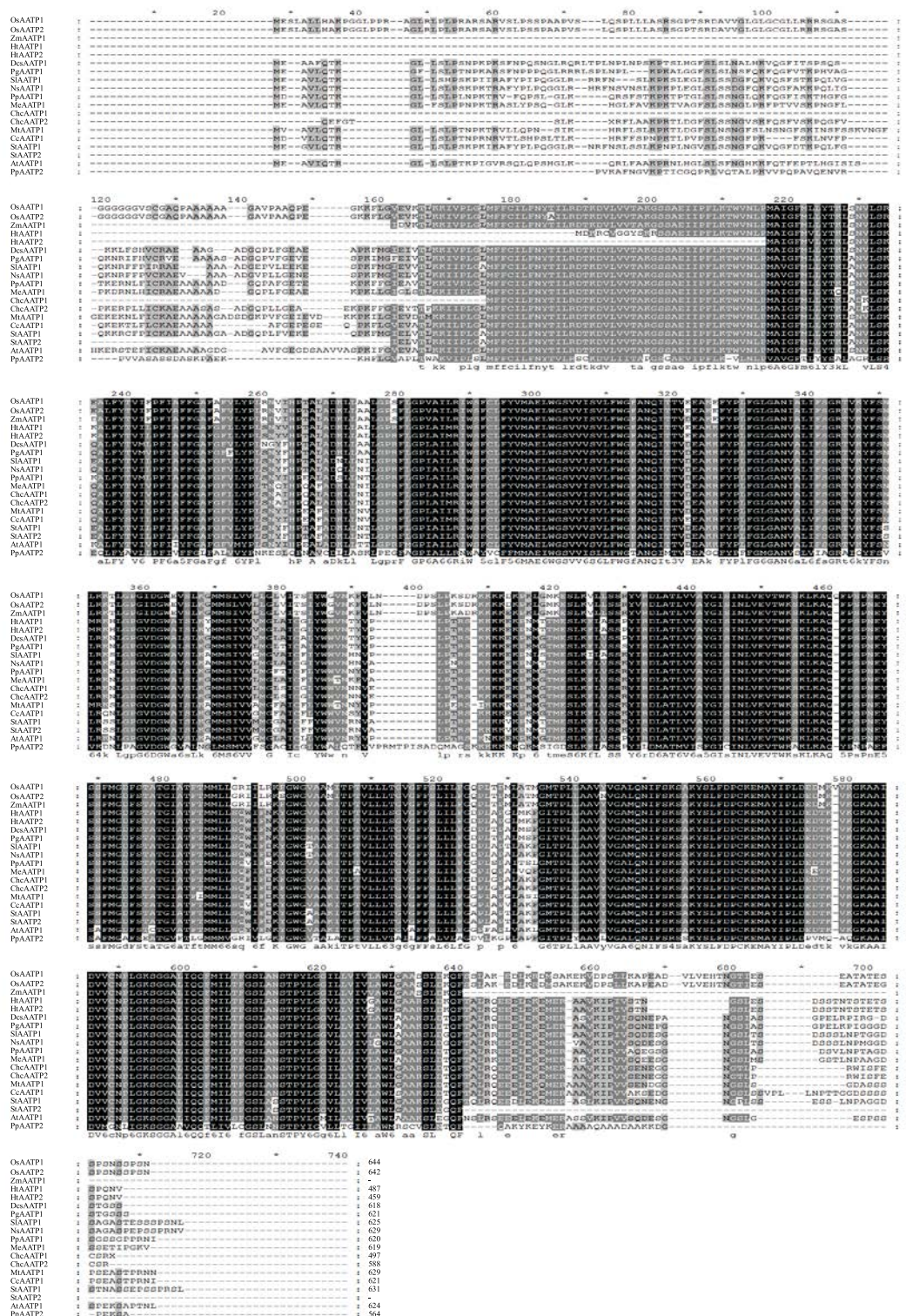


图 2 PgAATP1 蛋白氨基酸组成 (A)、蛋白磷酸化位点预测 (B) 及蛋白三级结构 (C) 预测

Fig. 2 Amino acid composition (A), phosphorylation site prediction (B), and prediction of tertiary structure (C) of PgAATP1



Os-水稻 Zm-玉米 Pp-波利衣藻 At-拟南芥 St-马铃薯 Sl-番茄 Ns-美花烟草 Dcs-胡萝卜 Ht-菊芋 Me-木薯 Chc-柑桔 Mt-苜蓿 Cc-木豆

Os-Oryza sativa Japonica Group Zm-Zea mays L. Pp-Polytomella parva At-Arabidopsis thaliana (L.) Heynh St-Solanum tuberosum L. Sl-Solanum lycopersicum L. Ns-Nicotiana sylvestris Spig & Comes Dcs-Daucus carota subsp. Linn. var. sativa Hoffm Ht-Helianthus tuberosus Linn. Me-Manihot esculenta Crantz Chc-Citrus hybrid cultivar L. Mt-Medicago truncatula Gaertn Cc-Cajanus cajan (Linn.) Millsp

图 3 PgAATP1 基因氨基酸序列与其他植物中 AATP 蛋白的氨基酸序列比对
Fig. 3 Alignment of AATP1 amino acids sequence of *P. ginseng* and other plants

参中 PgAATP1 与胡萝卜中 AATP1 蛋白序列同源性最高, 除此之外, 该蛋白与马铃薯 *Solanum tuberosum* L.、番茄 *Solanum lycopersicum* L.、美花烟草 *Nicotiana sylvestris* Speg & Comes 及菊芋 *Helianthus tuberosus* Linn. 中 AATP 蛋白序列同源性较高 (图 4)。

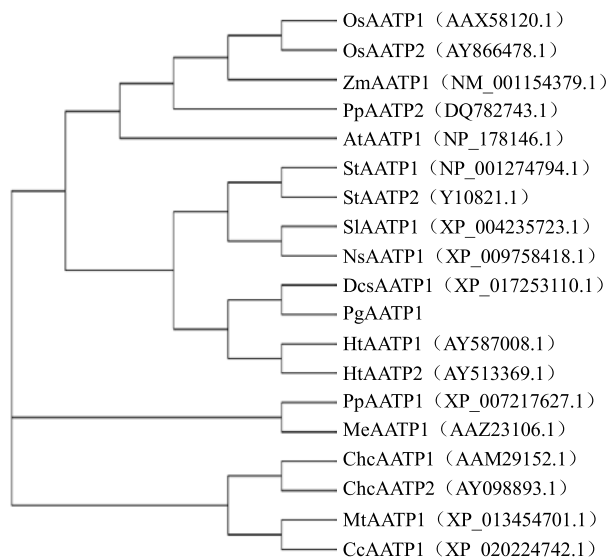


图 4 PgAATP1 氨基酸序列与其他植物中 AATP 氨基酸序列的同源性分析

Fig. 4 Homology analysis of amino acid sequence of PgAATP1 and AATP amino acid sequence between *P. ginseng* and other plants

3.4 PgAATP1 基因在不同组织中表达分析

在人参 14 个组织部位转录组数据库中, 利用 Perl 从中调取 PgAATP1 基因的表达量, 结果见图 5, 该基因在人参 14 个组织中表达量均比较高, 这可能是由于各个组织部位中均需要该基因的高表达产生质体 ATP/ADP 转运蛋白为质体提供能量来源。相比于其他组织部位而言, PgAATP1 基因在果肉和叶片中表达量更高, 这可能是因为这些组织部位的质体中代谢更加旺盛, 所需能量也更多。

3.5 茉莉酸甲酯处理对 PgAATP1 基因表达的影响

为了探究 PgAATP1 基因与人参皂苷生物合成过程的潜在关系, 利用实时定量 PCR 检测了茉莉酸甲酯处理对 PgAATP1 基因表达的影响。如图 6 所示, 茉莉酸甲酯处理 6~240 h 内, PgAATP1 基因持续上调, 从茉莉酸甲酯处理 6 h 开始, PgAATP1 基因表达即开始上调 (约为未处理组的 1.25 倍), 在处理的 240 h 内, PgAATP1 基因一直处于高水平表达中, 最大值出现在 96 h, 此时 PgAATP1 基因

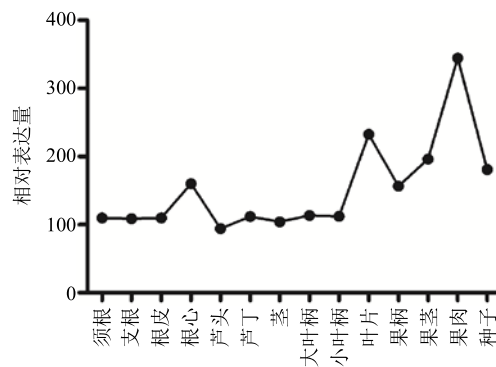


图 5 人参 14 个组织部位中 PgAATP1 的表达模式

Fig. 5 Expression patterns of PgAATP1 in 14 tissues of *P. ginseng*

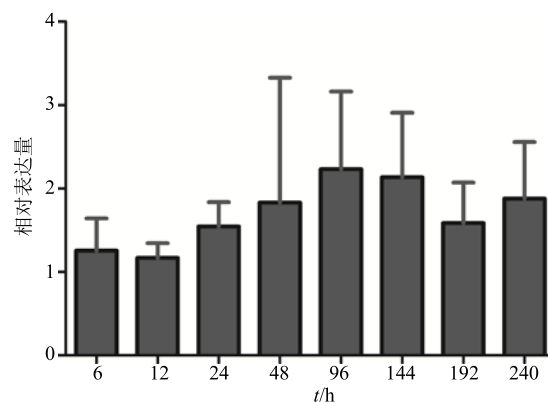


图 6 茉莉酸甲酯处理不同时间后人参中 PgAATP1 的表达

Fig. 6 Expression patterns of PgAATP1 in *P. ginseng* under treatment of methyl jasmonate

的表达量达到对照组的 2.23 倍。然而, 比较 MeJA 处理的 8 个时间点, PgAATP1 基因的相对表达量并没有显著性区别, 因此, 推测茉莉酸甲酯作为一种诱导子, 可以持续诱导质体内外包括人参皂苷在内的多种物质生成, 因而需要更多的能量供给, PgAATP1 基因的高表达正是为了以上物质合成的能量供应提供保障。

4 讨论

在药用植物人参中, 其活性成分如人参皂苷已受到广泛的关注, 人们多关注人参皂苷合成通路中结构基因的功能。然而, 某个关键酶基因的超表达或者抑制可能不足以对整个通路产生影响。如果能在整体水平上对其进行调控, 可能会对其合成通路整体起作用。萜类化合物的合成中重要的前体物质异戊二烯焦磷酸 (IPP), 除了经胞质中进行甲羟戊酸途径 (MVA pathway) 合成, 还可由叶绿体中进行 2-甲基-D-赤藻糖醇-4-磷酸途径, 又称为非甲羟戊酸途径合成^[15]。除了该途径外, 质体中还进行着

诸多代谢反应,如造粉体中淀粉的合成等,AATP作为质体上运输 ATP/ADP 的重要蛋白,其对植物的生理生化代谢的意义重大。

作为主要协同转运蛋白超家族(major facilitator superfamily, MFS)的成员之一,人参中PgAATP1基因具有AAA结构域,主要在膜上参与物质转运、具有ATP/ADP转运活性、选择性与共价结合ATP和膜的整体组成的功能。通过该基因的克隆与分析,了解该蛋白的理化性质,该蛋白具有11个跨膜螺旋结构域的疏水性跨膜蛋白,亚细胞定位预测显示定位于质体中,这也与已经研究验证过的其他物种中的质体AATP描述基本相符^[16-18]。通过对蛋白三级结构的预测,发现该蛋白的结构呈现对称分布,这与该蛋白所在家族的蛋白结构相吻合。而对于跨膜螺旋围成的中央空腔,根据已有的文献报道^[19]推测,该空腔很可能与该蛋白对物质的转运息息相关。另外,通过基因表达分析发现PgAATP1基因在果肉和叶片中表达量更高,推测是因为叶片中叶肉细胞含有较多叶绿体,是光合作用的主要场所,因此叶绿体膜上所需AATP蛋白较多,而果肉中含有很多淀粉,淀粉的生成也需要ATP的供给,因此需要更多AATP蛋白来进行ATP/ADP的转运,这也与其他植物中报道的AATP在淀粉积累方面的生理功能相一致。作为一种普遍存在的植物激素,茉莉酸甲酯被报道能够调节植物的生长和发育,近年来,茉莉酸甲酯被认为可作为诱导子添加到培养物中,在人参发状根中添加茉莉酸甲酯可增加人参皂苷的含量^[20],因此,通过分析茉莉酸甲酯处理后PgAATP1基因的表达情况可以了解该基因与人参皂苷生物合成的潜在联系。人参皂苷的生物合成途径以IPP和烯丙基二磷酸(DMAPP)为底物,通过多种酶(如异戊烯基焦磷酸异构酶、鲨烯合酶等)的催化生成各种单体皂苷。在植物中,IPP和DMAPP可以通过胞质中MVA及质体中MEP产生。在合成IPP及DMAPP的过程中,质体中进行的MEP途径中4-二磷酸胞苷-2-C-甲基-D-赤藓糖醇激酶(CMK)催化过程中就需要ATP的供应,因此,质体膜上的AATP酶表达量对人参皂苷的合成具有重要意义。本实验证实茉莉酸甲酯处理后240 h内PgAATP1基因一直处于持续高表达中,因此,推测茉莉酸甲酯作为一种诱导子,可以持续诱导质体内外包括人参皂苷在内的多种物质生成,因而需要更多的能量供给,在此过程中,PgAATP1基因的

高表达正是为了以上物质合成的能量供应提供保障。本研究不仅为人参中AATP1功能鉴定奠定基础,也为人参中质体其他代谢的研究提供理论依据。

参考文献

- [1] Endres M, Neupert W, Brunner M. Transport of the ADP/ATP carrier of mitochondria from the TOM complex to the TIM22-54 complex [J]. *Embo J*, 2014, 18(12): 3214-3221.
- [2] Heldt H W. Adenine nucleotide translocation in spinach chloroplasts [J]. *Febs Lett*, 1969, 5(1): 11-14.
- [3] Emes M J, Neuhaus H E. Metabolism and transport in non-photosynthetic plastids [J]. *J Exp Bot*, 1997, 48(12): 1995-2005.
- [4] Kampfenkel K, Möhlmann T, Batz O, et al. Molecular characterization of an *Arabidopsis thaliana* cDNA encoding a novel putative adenylate translocator of higher plants [J]. *Febs Lett*, 1995, 374(3): 351-355.
- [5] Mikami K, Ichimura K, Iuch S. Molecular characterization of a cDNA encoding a novel small GTP-binding protein from *Arabidopsis thaliana* L. [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1997, 1354(2): 99-104.
- [6] Möhlmann T, Tjaden J, Schwöppe C, et al. Occurrence of two plastidic ATP/ADP transporters in *Arabidopsis thaliana* L. [J]. *Eur J Biochem*, 1998, 252(3): 353-359.
- [7] Yuen C Y L, Leelapon O, Chanvivattana Y, et al. Molecular characterization of two genes encoding plastidic ATP/ADP transport proteins in cassava [J]. *Biol Plantarum*, 2009, 53(1): 37-44.
- [8] Wang F, Ye Y, Niu Y, et al. A tomato plastidic ATP/ADP transporter gene SLAATP increases starch content in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Physiol Mol Biol Pla*, 2016, 22(4): 497-506.
- [9] Wang F, Chen X, Zhang F, et al. A soybean plastidic ATP/ADP transporter gene, GmAATP, is involved in carbohydrate metabolism in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Plant Biotechnol Rep*, 2017, 11(3): 135-146.
- [10] Geigenberger P, Tjaden J S A, Quick P W, et al. Tuber physiology and properties of starch from tubers of transgenic potato plants with altered plastidic adenylate transporter activity [J]. *Plant Physiol*, 2001, 125(4): 1667-1678.
- [11] 王雁楠. 甘薯淀粉合成相关基因IbAATP和IbSSI的克隆及功能分析 [D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- [12] 于林卉, 刘保申, 李文兰, 等. 玉米ZmAATP基因的克隆及遗传转化载体的构建 [J]. 山东农业大学学报: 自然科学版, 2012, 43(3): 321-327.
- [13] 黄伟奇. 转ATP/ADP转运蛋白基因水稻的获得及其初步研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2005.

- [14] Wang K, Jiang S, Sun C, *et al.* The spatial and temporal transcriptomic landscapes of ginseng, *Panax ginseng* C. A. Meyer [J]. *Sci Rep*, 2015, doi:10.1038/srep18283.
- [15] 岳跃冲, 范燕萍. 植物萜类合成酶及其代谢调控的研究进展 [J]. 园艺学报, 2011, 38(2): 379-388.
- [16] Trentmann O, Horn M, Scheltinga A C T, *et al.* Enlightening energy parasitism by analysis of an ATP/ADP transporter from chlamydiae [J]. *PLoS Biol*, 2007, 5(9): e231.
- [17] Neuhaus H E, Thom E, Möhlmann T, *et al.* Characterization of a novel eukaryotic ATP/ADP translocator located in the plastid envelope of *Arabidopsis thaliana* L. [J]. *Plant J*, 2010, 11(1): 73-82.
- [18] Schünemann D, Heldt H W. ADP/ATP Translocator from pea root plastids (comparison with translocators from spinach chloroplasts and pea leaf mitochondria) [J]. *Plant Physiol*, 1993, 103(1): 131-137.
- [19] Sahintóth M, Karlin A, Kaback H R. Unraveling the mechanism of the lactose permease of *Escherichia coli* [J]. *PNatl Acad Sci USA*, 2000, 97(20): 10729-10732.
- [20] 王冲之, 丁家宜. 不同培养基及外源激素对西洋参毛状根的生长和皂甙含量的影响 [J]. 植物资源与环境学报, 2001, 10(4): 1-4.