

# 金鱼草脂氧合酶基因*AmLOX1*的克隆及表达分析

王少杰<sup>1</sup> 刘晓慧<sup>1,2</sup> 胡增辉<sup>1</sup> 冷平生<sup>1\*</sup><sup>1</sup>北京农学院园林学院, 北京 102206; <sup>2</sup>北京市花木有限公司, 北京 102206)

**摘要** 脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)是茉莉酸信号途径的关键酶。该研究克隆了金鱼草的*LOX*基因,命名为*AmLOX1*。*AmLOX1*基因的开放阅读框为2 649 bp,编码883个氨基酸。*AmLOX1*蛋白质的理论等电点为pH6.06,相对分子质量为100.52 kDa。*AmLOX1*与其他植物的*LOX*基因均有较高的同源性。实时荧光定量PCR表达分析发现,*AmLOX1*在金鱼草花中表达量显著高于根茎叶;在花器官中,下瓣的相对表达量最高;在花不同发育阶段中,衰败期的花*AmLOX1*的相对表达量最高。

**关键词** 金鱼草; *AmLOX1*; 基因克隆; 表达分析

## Cloning and Expression Analysis of Lipoxygenase Gene *AmLOX1* from Snapdragon

Wang Shaojie<sup>1</sup>, Liu Xiaohui<sup>1,2</sup>, Hu Zenghui<sup>1</sup>, Leng Pingsheng<sup>1\*</sup><sup>1</sup>School of Landscape Architecture, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China;<sup>2</sup>Beijing Florascape Co. Ltd, Beijing 102206, China)

**Abstract** Lipoxygenase (LOX) is a key enzyme in jasmonic acid signaling pathway. In this study, the *LOX* gene of snapdragon was cloned and named as *AmLOX1*. The open reading frame of the *AmLOX* is 2 649 bp, which encodes 883 amino acids. The theoretical isoelectric point of *AmLOX1* protein is pH6.06, and the relative molecular mass was 100.52 kDa. *AmLOX1* shares high homology with the *LOX* genes of other plants. The Real-time fluorescence quantitative PCR analysis was used to analyze the relative expression of *AmLOX1* in snapdragon. The expression of *AmLOX1* in snapdragon flower was significant higher than that of root, stem or leaf. While, it expressed highest in lower pedals around the floral organs. And the relative expression level of the decline period was the highest among different developmental stages.

**Keywords** *Antirrhinum majus* L.; Lipoxygenase; gene cloning; expression analysis

茉莉酸信号途径属于脂氧途径中的一个重要分支,包括识别、合成、转导和响应4个过程。 $\alpha$ -亚麻酸由细胞膜释放依次进入细胞质和叶绿体中,经过脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)催化生成HPOTE(hydroperoxyoctadeca-9,11,15-trienoate),随后

经一系列的催化氧化反应最终生成茉莉酸。其中,LOX是茉莉酸合成途径的第一个关键酶,催化 $\alpha$ -亚麻酸生成13-氢过氧化亚麻酸<sup>[1]</sup>。

LOX在植物的生长发育尤其是防御应答中起着重要的作用。20世纪80年代,*LOX1*基因首次从大

收稿日期: 2017-09-08 接受日期: 2018-03-21

国家自然科学基金(批准号: 31640070)、北京市自然科学基金(批准号: 8132005)、北京市属高等学校创新团队建设与教师职业发展计划项目(批准号: IDHT20150503)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 13671324936, E-mail: lengpsh@tom.com

Received: September 8, 2017 Accepted: March 21, 2018

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31640070), the Natural Science Foundation of Beijing (Grant No.8132005), the Project of Construction of Innovative Teams and Teacher Career Development for Universities and Colleges Under Beijing Municipality (Grant No.IDHT20150503)

\*Corresponding author. Tel: +86-13671324936, E-mail: lengpsh@tom.com

网络出版时间: 2018-06-01 15:39:26

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180601.1539.020.html>

豆<sup>[2]</sup>中被克隆出来, 随后 $LOX$ 全长基因陆续在小麦、苹果<sup>[3]</sup>、丹参<sup>[4]</sup>、油桐<sup>[5]</sup>、番茄等植物中克隆出来, 随后对 $LOX$ 基因的研究也逐渐深入了起来。胁迫和损伤可以诱导其表达, 如水分胁迫条件下, 茉莉酸和 $LOX$ 的活性均增加, 并且两者呈极显著正相关, 同时加入 $LOX$ 活性抑制剂会阻断水分胁迫条件下茉莉酸的积累<sup>[6]</sup>。

金鱼草(*Antirrhinum majus* L.)是玄参科金鱼草属的多年生草本植物, 其花香浓郁、花期长, 是研究花香的模式植物。金鱼草花香的主要特征成分为萜烯类物质<sup>[7]</sup>。萜类化合物是广泛存在于植物中的一类代谢产物<sup>[8]</sup>, 是花香的重要组成部分。花卉产生的挥发物会随着环境的变化而不同, 同时也受自身基因型的影响, 花发育也是影响其挥发物变化的重要因素<sup>[9]</sup>。Schade等<sup>[10]</sup>的研究显示, 一般情况下花芽是没有什么香味的, 花芳香特征的气味是随着花瓣的展开逐渐呈现的。

在前期工作中我们发现, 对金鱼草花瓣喷施茉莉酸甲酯能够显著增加花香中萜烯类物质的含量(未发表), 推测茉莉酸信号途径可能参与了萜烯类物质的合成, 但目前对其调控机制并不清楚。本研究对金鱼草的 $LOX$ 基因进行克隆和时空表达的定量分析, 为阐明茉莉酸途径对花香合成及释放的作用奠定基础。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 实验材料

选择金鱼草(*Antirrhinum majus* L.)作为实验材料, 采用草炭与蛭石(3:1)混合基质栽培在北京农学院园林植物试验基地的日光温室内。温室内设风机、水帘和遮阳网等通风降温设备。温度(25±2)℃, 湿度70%, 光照强度为500  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。5×10的穴盘中育苗, 待金鱼草长至6~8片真叶时移苗至10 cm×15 cm的花盆中培养。分别在花蕾、半开、盛花和败花4个花期采集金鱼草的完整花。在盛花期分别采集根、茎、叶、上、下花瓣、花筒、花萼、雄蕊和雌蕊等花器官。将采集的样品保存于-80℃冰箱内。

植物RNA提取试剂盒(TransZol™ Up Plus RNA Kit)、逆转录试剂盒(TransScript First-Strand cDNA Synthesis)、2×EasyTaq PCR SuperMix、载体和感受态细胞(pEASY®-T1 Simple Cloning Kit)、氨苄青霉素(ampicillin, Amp)、卡那霉素(kanamycin,

Kan)、GelStain凝胶染料、IPTG和X-Gel均购于北京全式金生物技术有限公司。TaKaRa切胶回收试剂盒、DNA Maker 2000、SYBR® Premix Ex Taq T、SMARTer® RACE 3'5'aq Kit、SYBR Premix Ex Taq™ II均购于大连宝生物有限公司。实验所需引物的合成和序列测定由北京六合华大基因科技有限公司完成。其他试剂均购于百诺威生物科技有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 总RNA提取与第一链cDNA的合成 按照TransZol™ Up Plus RNA Kit说明书提取金鱼草总RNA。逆转录按照TransScript First-Strand cDNA Synthesis说明书进行操作, 合成cDNA。

1.2.2 金鱼草 $LOX$ 同源基因cDNA全长克隆 以金鱼草cDNA为模板比对其他物种 $LOX$ 基因的保守区, 设计正向引物(Am $LOX$ -F)和反向引物(Am $LOX$ -R)进行PCR扩增, 纯化回收PCR产物。将纯化的产物连接到PEASY-T1载体上并转化到Transl-T1感受态细胞中, 再对重组质粒测序。将测序结果在美国国立生物技术信息中心(NCBI)上进行比对。确认测序结果在NCBI上其他物种 $LOX$ 基因有较高的相似性后根据所得片段用Primer 5软件分别设计3'端引物(3- $LOX$ )和5'端引物(5- $LOX$ )进行RACE克隆。利用DNAMAN将测序结果与之前cDNA的测序结果进行拼接, 得到Am $LOX1$ 基因全长。在NCBI上分析Am $LOX1$ 基因的最大开放阅读框, 设计可以完整扩增 $LOX$ 基因的引物( $LOX$ -F和 $LOX$ -R)。并利用引物, 获得Am $LOX1$ 基因全长。

1.2.3 Am $LOX1$ 基因生物信息学分析 将检测的序列结果使用DNAMAN进行拼接, 在NCBI上查找Am $LOX1$ 的最大开放阅读框(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder>)进行基因相似性对比和功能保守区分析(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)。在<http://www.expasy.org>/网站上预测蛋白质的理论等电点、分子量及Am $LOX1$ 蛋白质二级结构; 在<http://swissmodel.expasy.org>/网站上构建Am $LOX1$ 三维立体模型, 通过<http://www.cbs.dtu.dk/serices>网站预测跨膜区域。

1.2.4 Am $LOX1$ 基因表达相对定量分析 提取金鱼草根、茎、叶、花蕾期、花半开期、盛花期、败花期以及花萼、雌蕊、雄蕊、花上瓣、花下瓣、花筒的RNA, 逆转录合成cDNA作为金鱼草实时定量

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物名称 Primer name	序列(5'→3') Sequence(5'→3')
AMLOX-F	AGG R(A/G)A CD(A/G/T) GTK (G/T)GT D(A/G/T)H (A/C/T)TG ATG AA
AMLOX-R	ACA AAT GGC TCD (A/G/T)AT Y(C/T)A CK(G/T) GCA TGA GTA TT
3-LOX	GAT TAC GCC AAG CTT AGC CGG AGT GAA CCC TGT TTG CCT
5-LOX	GAT TAC GCC AAG CTT CAT GAA ACG ACG GCT CAC AGT GGG GCG G
LOX-F	ATG GCG AAT TTC CAT CCA TTT TGT T
LOX-R	TCA AAT TGA GAC ACT GTT TGG AAT TCC CCT CA
YGLOXF	GAA ACC AGG GTA ACA AAC CG
YGLOXR	GTG ATC TGA GGT GTT GGG AT
UBIF	AGC CGA TGG AAG TAT ATG TTT GGA CAT C
UBIR	CTA ACT TTG CGG TTA TAA TCT CGT TTA

PCR的模板,以泛素(*ubiquitin*)作为内参基因,实时定量PCR所用的*AmLOX1*基因的引物为YGLOXF和YGLOXR,内参的引物为UBIF和UBIR(表1)。利用iQ5软件、Microsoft Excel和SPSS分析处理实验结果,相对表达量公式为 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算*AmLOX1*基因金鱼草不同花期、不同组织器官以及盛花的不同花器官的表达模式。

## 2 结果

### 2.1 金鱼草*AmLOX1*基因保守区片段克隆

通过对比其他物种LOX基因片段设计*AmLOX1*的引物,以金鱼草cDNA为模板,AMLOX-F、AMLOX-R为引物进行PCR扩增,得到一条约1 600 bp明亮的条带(图1)。回收目的条带,将条带连接PEASY-T1载体后转入Transl-T1感受态细胞中。在含有AMP、X-gal和IPTG的LB的培养基上涂布,获得白色菌斑,挑取

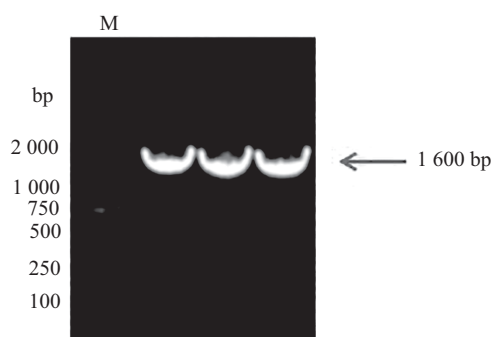
单菌落菌液PCR验证,测序获得目的基因序列。将目的基因的序列在NCBI上BLAST工具进行序列相似性比对。结果表明,其与芝麻、胡萝卜、梨、椰子等LOX同源基因相似性均达到70%以上,其命名为*AmLOX1*。

### 2.2 金鱼草*AmLOX1*基因5'端3'端及全长克隆

根据金鱼草花中扩增得到的*AmLOX1*基因的保守区下游序列设计引物5-LOX和3-LOX,结合RACE试剂盒中的混合引物UPM进行5'RACE扩增。经过RACE逆转录、RACE扩增等反应后,所得结果为一条与预期片段大小相近的目的条带(图2)。将目的条带切胶回收、连接转化及转化子鉴定后,将菌液进行测序鉴定。在测序结果中成功找到了所设计的5-LOX和3-LOX引物序列,经过BLAST比对分析后,分别获得约2 300 bp和1 600 bp的基因序列,利用DNAMAN软件将所得5'RACE、3'RACE片段与之前保守区克隆结果片段进行拼接,分别获得具有5'端和3'端的*AmLOX1*基因序列。将5'端和3'端序列拼接获得金鱼草*AmLOX1*全长序列,在NCBI上查找*AmLOX1*基因的最大开放阅读框。设计引物LOX-F和LOX-R,以金鱼草cDNA为模板进行PCR扩增,测序获得*AmLOX1*基因的cDNA序列,该基因cDNA全长为2 649 bp(图3)。经DNAMAN软件比对分析获得基因全长序列以及编码的氨基酸序列(图4)。

### 2.3 *AmLOX1*氨基酸序列分析及蛋白质特性分析

2.3.1 *AmLOX1*氨基酸序列的同源性分析 将*AmLOX1*的氨基酸序列,在NCBI网站(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)上的蛋白质数据库进行BLAST,

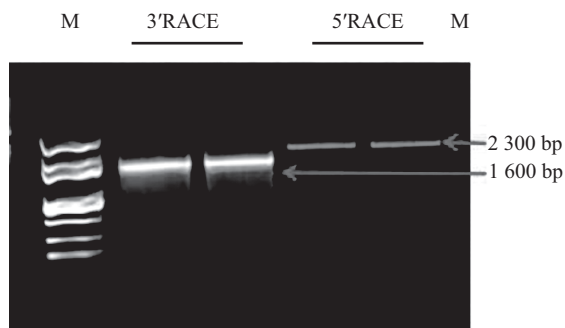


M: DNA标准分子量。

M: DNA marker.

图1 金鱼草*AmLOX1*基因保守区的扩增产物电泳图

Fig.1 Agarose gel for PCR result of conserved fragment of *AmLOX1* gene of *Antirrhinum majus* L.



M: DNA标准分子量。

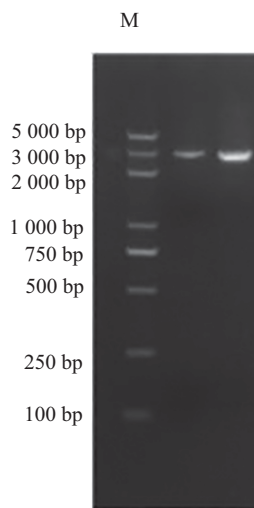
M: DNA marker.

图2 金鱼草*AmLOX1*基因5'/3'RACE PCR  
反应扩增产物电泳图

Fig.2 Agarose gel for 5'/3'RACE PCR result of *AmLOX1*  
gene of *Antirrhinum majus* L.

下载与金鱼草AmLOX1蛋白质相似性较高的10个物种的蛋白质序列,利用DNAMAN进行多序列同源性比对(图5)分析发现,该AmLOX1的氨基酸与小胡麻(*Sesamum indicum*, XP\_011095964.1)的相似性为87%;与麻疯树(*Jatropha curcas*, XP\_012077426.1)的相似性为84%;与牵牛花(*Ipomoea nil*, XP\_019176725.1)和桑树(*Morus notabilis*, XP\_010100109.1)的相似性为83%;与可可(*Theobroma cacao*, EOY17386.1)、烟草(*Nicotiana tabacum*, NP\_001312395.1)和陆地棉(*Gossypium hirsutum*, XP\_016749737.1)的相似性为82%;与白梨(*Pyrus bretschneideri*, XP\_009362371.1)相似性为80%;与天蓝遏蓝菜(*Noccaea caerulescens*, JAU28288.1)的相似性为78%。分析可得,该氨基酸序列具有完全保守的3个脂氧合酶重要特征区域,并含有植物脂氧合酶高度保守的组氨酸(H)(如第533、543、561、570、729位的H);第882位为异亮氨酸(I),此位点可能与铁离子螯合;第596位的缬氨酸(V)参与组成9-LOX的活性<sup>[11]</sup>。

**2.3.2 AmLOX1蛋白质理化性质分析** LOX序列ORF框有2 649个碱基,包含883个氨基酸。利用ExPasy网站预测AmLOX1蛋白质的理论等电点和相对分子质量,AmLOX1蛋白质的理论等电点(pI)为pH6.06,呈酸性,相对分子质量为100.52 kDa。利用ExPasy网站(<http://web.expasy.org/>)的GOR4工具预测AmLOX1蛋白质二级结构,其中 $\alpha$ -螺旋(Alpha helix, Hh)包含294个氨基酸残基,占总氨基酸残基的33.33%;延伸链(extended strand, Ee)包含154个氨基酸残基,占总氨基酸残基的17.46%;无规卷曲



M: DNA标准分子量。

M: DNA marker.

图3 金鱼草*AmLOX1*基因的全长扩增产物电泳图

Fig.3 Agarose gel for full-length cDNA PCR result of  
*AmLOX1* gene of *Antirrhinum majus* L.

(random coil, Cc)包含434个氨基酸残基,占氨基酸残基总数的49.21%。氨基酸组成中以亮氨酸、谷氨酸、甘氨酸和天冬氨酸含量较高,AmLOX1共有114个负电荷的氨基酸残基(Asp和Glu),正电荷的氨基酸残基(Arg和Lys)共有100个。AmLOX1不稳定系数为41.11,预测属于不稳定蛋白质;脂肪系数为83.58,为脂溶性蛋白质;其平均亲水指数为-0.452,预测其为亲水性蛋白质。预测该蛋白质无跨膜结构。

**2.3.3 AmLOX1蛋白质三维立体结构预测** 利用Swiss-model程序(<http://swissmodel.expasy.org/>)构建了AmLOX1蛋白质的三维立体结构模型(图6)。以1n8q.1.A为模板,蛋白质模型QMEAN得分为0.78,与模板的相似性为62.38%。

生物信息学分析可知,AmLOX1蛋白质的理论等电点为pH6.06,相对分子质量为100.52 kDa。AmLOX1氨基酸组成中以亮氨酸、谷氨酸、甘氨酸和天冬氨酸含量较高,共有114个负电荷的氨基酸残基(Asp和Glu),正电荷的氨基酸残基(Arg和Lys)共有100个。该基因具有9-LOX的活性,属于亲水、无跨膜结构及不稳定的蛋白质。

## 2.4 AmLOX1基因表达的时空特异性分析

以金鱼草cDNA为模板,荧光引物YGLOXF、YGLOXR和UBIF、UBIR为引物,分别进行PCR扩增,退火温度为57 °C,获得的PCR产物电泳无引物二聚体,PCR产物回收,连接转化测序后,与预测片段一

```

1      GATCATGTGTTTGGTAAATATTAATTCATCTTCTGCTCTTTGTGTCATAATTTTTTTT
61     TAAACTTTTTTGTTCATGCGAAATTTCCATCCATTTTGTTCACACAGTATGTTGGAGAA
      M A N F H P F C S T G M L E K
121    ATTACTGGGAAAATTTGTGGCAAGATTAAAGATGAACCAATATTGGAAGACAGGAAGAA
      L L G K V C G K I K D E P N I E N R K K
181    GATTAAGGGACTTGTGTTGATGAAGAAGAATGTAGGGACCCAAAGGATTTAGGTGC
      I K G T V V L M K K N V G D A T D L G A
241    TTCATTCTGATGATTCACGAAGTTATCGGTAAAGGGGTGCTGTCAGCTCATCAG
      S L L D R F H E V I G K G V S L Q L I S
301    CCOCGTTCATGGGATCCGCAATGAAATAGAGGGAACATAGAAAGCAGCACACCT
      A V H G D P A N E N R G K L G K A A H L
361    GGAAAATGGGTCACAAAGTTTACTTCTTCTGCGATGATATCGGACATTCAGCGT
      E N W V T K F T S L S A D D H A T F S V
421    TACATTTCGGTGGAGAGCTCTCGGAAATTCGGTCTTCTGTTATCAAAAACCATCA
      T F P W D E S L G I P G A F V I K N H H
481    CCATTACAGTTTAACTTAAGACCGTACATTAAGAAGCGTTCCGCAACAGCGGAAACT
      H Y Q F Y L K T V T L E D V P E H G K L
541    CCACCTTTCGCAATTCGGGTATATCTGCAACCGGTACAAATATGACCGTGTCTT
      H F V C N S W V Y P A H R Y K Y D R V F
601    CTTCGCAAAACAGGTACTTCCAGGTGATACACAGAGCTCTGACGCCCTTACAGAGA
      F P N K V Y L P G D T P E A L R P Y R E
661    GGAAGAGCTGGTAAACCTTCGTTGGGATGGGTAGCAGCGTGAAGGAGTGGACAGGGT
      E E L V N L R G D G S S T L K E W D R V
721    ATACGACTATGCAATCTATAATGATTTGGGAAGTCTGAAAAGGAAACAAACAGCAAG
      Y D Y A F Y N D L G S P E K G K Q H A R
781    GCGAGTCTTGGTGTGATCAAGCACTACCCATATCTGAGAGAAAGCGGTGCTGCG
      P V L G S K Q Y P Y P R R G R T G R R
841    TCCAAACAAAAGATCCCAATCTGAAAGCGCGCTATTCTTTTGGATTAAATTTTA
      P N K K D P K S E S R L F L L S L S I Y
901    TGTTCACAGATGAGAGGTTAGTCAAGTGAATTTCTAGATTTTCAATGTTATGCTCT
      V P R D E R F S Q V K F S D F I G Y A L
961    TAAATCCCTGGTCAAGTCTTCTGCTCCAGAGATAAAGCTGTATTTGACAAAACCTTTAA
      K S L G Q V L L P E I K A V F D K T F N
1021   TGAATTCAGCTTCCAGACATCTGACCTATATGAAAGGAGAACTCAAGCTCCCTGA
      E F D T F Q D M L D L Y E G G I K L P D
1081   CGGTACACACTAGACAAAATAGGAGCTTGTTCGGTGGAGTACTCAAGGAACTTAT
      G H T L D K I R E L V P W E L L K E L I
1141   TCGTTCGGTGGGAGCAGCTACTTAAAGTTCGCCATGCGTATGTTTCAAGAGAAATG
      R S D G E R L L K F P M P D V I K E N R
1201   AACCGCATGAGAACAGTGAAGAATTTGACAGAAATCTGACCGGAGTGAACCGCTGT
      T A W R T D E E F G R E M L A G V N P V
1261   TTGCATTCGAGCGCTCCAGGAGTTTCCACCTACTAGCAACCTAGACCTCAAGTATATGG
421    C I R R L Q E F P P T S N L D P Q V Y G
1321   TAATCAGACAGTACCATCAGAAAGGACACATAGAGAAATACATGAACTTACAGT
      N Q T S T I R R E H I E K Y M N G L T V
1381   GAGTAGGCGCATCCACAAAACAGCTGTACATATTGGATCATCATGATGACCTGATGAC
      D E A I A Q N K L Y I L D H H D A L M T
441    GTAACCTGAGAGGATTAATTCACAGGAGACACATATGCGAGTGAACATCTCTT
      Y L R R I N S T A T K T Y A S R T I L L
501    ACTCCAGATGATGGGACACTGAAGCCACTAGCAATGAACTGAGCTTGGCCACATGAAGA
      L Q D D G T L K P L A I E L S L H E D
561    TGGTATTATCTTGGACCAATCAGTGAAGTGTACTCTCCATCGAAGAAAGGAACTCAGAA
      G D Y L G P I S E V F T P S E E G I Q N
621    TTCCATTGGCAGCTGCAAAAAGCTTATGCTGCACTAAATGATTCAGCGTATCATCAGCT
      S I W Q L A K A Y A A V N D S G Y H Q L
681    CATAAGCCACTGCTTGAACACACATGAGTGTGAGCACTTATAATGCAACAAATAG
      I S H W L N T H A V I E P F I M A T N R
741    GCAGCTGAGCGTCTTCAACCCGATATCAAGCTTCTGCAACCTCATTTCCGGGATACAAT
      Q L S V L H P I Y K L L Q P H F R D T M
801    GCACATAAATGCGCTTGGCTGGCAGATTCCTTAACCTCAGGTGGAGTACTCGAAACTAC
      H I N A L A R Q I L I N S G G V L E T T
861    CGTCTTTCAGGAGATATGCCATGGAAATGCTCCCGCCTTTATGCAAACTGGAACCTT
      V F P G R Y A M E M S S A I Y A N W N F
921    CACTGAGCAGGACTTCTGAAAGATCTCTGAAAAGAGAAATGCAAGTGAAGACCCCG
      T E Q G L P E D L L K R G M A V E D P S
981    CCAGCCCGCGGCTGAGACTCATGATAGAAAGATATCTTCCCGCGTGTGTTTGA
      Q P R G L R L M I E D Y P P Y A V D G L E
041    AGTTTGGTTCGAATGAAAGCTGGTCAATGATATTGCTGCTTCTACTACCCCAAGGA
      V W S A I E A W V N D Y C C F Y Y P T D
101    TGATACAGTCCAGGAGATTCAGAACTCCAACTGAGTGAAGTGAAGTGGAGCTGG
      D T V Q G D S E L Q S W W N E T R E V G
161    ACATGAGACTGAAAGATGAGCCCTGGTCCCAAAATGAGACAGCAACCCGAACTCAT
      H G D L K D E P W W P K M Q T R T E L I
221    CAAATCATCCAGATAATAATATGGTGGCGTCTGCTTCTTATGCTGCTGTAATTTGG
      K S C T I I I W V A S A L H A A V N F G
281    ACAATATCTTATGCGGCTATCTCCAAACCGCCACTGTGAGCGCTGTTTATGCTGCC
      Q Y P Y A G Y L P N R P T V S R R F M P
341    TAAACCGAAGCTCCCGAGTATGCTGAACTTGAAGCAAAACCCAGATTTAGCCTTGTAA
      K P G T P E Y A E L E A N P D L A F L K
401    GACAAATACAGCAATTTCAAACACTCTTGGTGTCTTCTATGAAATATATATCCAG
      T I T A Q F Q T L L G V S L I E I L S R
461    GCATCTACAGATGAGATTATCTGCGGAGAGACACCCCGACTGACGATGATGA
      H A T D E I Y L G Q R D T P D W T A D D
521    TAAGGCCAAGAGGCTTTAAAGAAATGCGGCGCCACTAATGATATGAAACAGGGT
      K A Q E A F K K F G A T L I D I E T R V
581    AACAAACCGAAGCAACAGAGGCGCTTAAAGAAATGATATGCGGCGCTTAAACGCTTGA
      T N R N N D R A L R N R Y G P V N V P Y
641    CACCTTATATATCCACACCTCAGATCAGTAATCAGGGTGGCCCTAAATGAGGGG
      T L L Y P N T S D H S N Q G G L N V R G
701    AATTCCAAACAGTCTCAATTTGATCATATATGGGTGGTGAAGAACTTTTGTGGCTTA
      I P N S V S I *
761    TATAAAGTTTGTGCGGATTTTTCATCTTTTCTACTGTCAGAAAGGTGAAAAA
821    AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
    
```

\*代表终止密码子。

\* indicates the termination coden.

图4 金鱼草*AmLOX1*基因序列及其编码的氨基酸序列

Fig.4 *AmLOX1* gene sequence and deduced amino acid sequence of *Antirrhinum majus* L.

致,证明这两对引物可用。

由图7可知,不同器官中金鱼草*AmLOX1*基因的相对表达量不同,该基因主要在花中表达,花中的表达量显著高于其他器官,茎中最少,叶和根中的表达量相近,叶的*AmLOX1*基因表达量略高于根,花中*AmLOX1*基因的表达量是叶和根中表达量的6~7倍,茎中该基因的表达量仅为茎的1/4。

对盛花期金鱼草花器官中*AmLOX1*基因表达进行实时定量PCR分析,结果显示,该基因主要在金鱼草花瓣中表达,且下瓣中表达量显著高于其他器官。该基因在雌蕊和花萼中的表达量显著低于花瓣和雄蕊,仅为下瓣表达量的1/10。

不同花期*AmLOX1*基因的表达量不同,相互之间存在显著差异,从花蕾期到败花期整个开花过程中,*AmLOX1*基因的表达量逐渐增加,败花期*AmLOX1*基因的相对表达量最高,花蕾期该基因仅是败花期该基因表达量的1/10,半开期是败花期的1/4,盛开期则是败花期的1/2。

### 3 讨论

LOX在茉莉酸途径中起到了十分重要的作用,茉莉酸参与植物次生代谢的产生与调控。茉莉酸,是由亚麻酸经脂氧合酶LOX的催化合成为13-HPOT,再经一系列的催化氧化作用形成的(图8)。

金鱼草*AmLOX1*基因主要在花中表达,在茎和叶中的表达量相近,在根中的表达量最小。花中*AmLOX1*基因主要在花瓣中,尤其是下瓣中表达,在雌蕊和花萼中表达较低。对唐菖蒲LOX1研究发现,LOX1在匍匐茎和叶中的表达量最高,花和籽球中较低<sup>[12]</sup>,而马铃薯LOX1在根、匍匐茎与块茎中表达分析发现,其在即将膨大的匍匐茎顶端高效表达<sup>[13]</sup>。本研究与马铃薯及唐菖蒲的表达模式不同,可能与其亚细胞定位有关。研究表明,LOX的亚细胞定位的不同,可能造成其在功能上的差别。不同花期金鱼草花中*AmLOX1*的表达量有显著差异,随着花朵的开放,*AmLOX1*的表达量逐渐增加,败花期表达量最高,花蕾期表达量最低,这可能与金鱼草种子的发

AaLOX	MANFHPFCSTGMLEKLGKVGKIKD.....EPNIENR..KRIKRWLKKVLDMLNHLGASLIDRVHEWLGKVSILQISANRGPDPANG...KRGKIGTAMLEWVIAI	105
AmLOX	MEVFLKLVKLVETVCGKGTDKSI...DDNNNNFGRKIKRWLKKVLDMLNHLGASLIDRVHEWLGKVSILQISANRGPDPANG...KRGKIGTAMLEWVIAI	101
AtLOX	MIHTDIAELCVKPKTKTKTKMEEDVKTTMTKIKRWLKKVLDMLNHLGASLIDRVHEWLGKVSILQISANRGPDPANG...KRGKIGTAMLEWVIAI	81
CcLOX	MEVN.....HKEKVERSKRVKRWLKKVLDMLNHLGASLIDRVHEWLGKVSILQISANRGPDPANG...KRGKIGTAMLEWVIAI	100
GsLOX	MERSKRVKRWLKKVLDMLNHLGASLIDRVHEWLGKVSILQISANRGPDPANG...KRGKIGTAMLEWVIAI	80
JrLOX	MEKLRGNKK.....KQNHKVDGNKRVKRWLKKVLDMLNHLGASLIDRVHEWLGKVSILQISANRGPDPANG...KRGKIGTAMLEWVIAI	77
MdLOX	MEAYCLDKDEKDDND.EKPDYVSGSRIKRWLKKVLDMLNHLGASLIDRVHEWLGKVSILQISANRGPDPANG...KRGKIGTAMLEWVIAI	96
MnLOX	MGFCSSLGTSHEAVFCMSKESTI...ISQKVAVETKRIKRWLKKVLDMLNHLGASLIDRVHEWLGKVSILQISANRGPDPANG...KRGKIGTAMLEWVIAI	104
NtLOX	MDLKLQVCGKNDHPTI...EDNHTNG..KVRGVLKRWLKKVLDMLNHLGASLIDRVHEWLGKVSILQISANRGPDPANG...KRGKIGTAMLEWVIAI	94
OeLOX	MLEKLGKVGKGTRE.....EPKTEE...KRIKRWLKKVLDMLNHLGASLIDRVHEWLGKVSILQISANRGPDPANG...KRGKIGTAMLEWVIAI	89
RcLOX	MEVFCAPRPNQ.....PNGTIVTERFKIKRWLKKVLDMLNHLGASLIDRVHEWLGKVSILQISANRGPDPANG...KRGKIGTAMLEWVIAI	88
SiLOX	MGIFPPHCSSEMLEKLGKVGKGTRE.....EPKTEE...KRIKRWLKKVLDMLNHLGASLIDRVHEWLGKVSILQISANRGPDPANG...KRGKIGTAMLEWVIAI	100
Consensus	mlek levvcgk kd epn v kkiqkewllkknvmdavgsldrlrhefgrgvsfqlisaektdlang...lrgklgkaylekvwst	
AaLOX	ITTSVATADDSANVSEDEAMGTPAPITANHHVYVMDKVTLEDV...RHGVHFVNSWYPAHRYKYDRFFITNIVLPCCPTPEPLRDYREELVLDGAGSG.EL	213
AmLOX	FTSLAADDHATVSVTFWDESICPPAFVIANHHYQPMKVTLEDV...EHGKLFVNSWYPAHRYKYDRFFPNKIVLPCCPTPEPLRDYREELVLDGAGSG.EL	209
AtLOX	IKTSVTAETAVGVTFWDESICPPAFVIANHHYQPMKVTLEDV...DGGEGGATATFVNSWYPAHRYKYDRFFPNKIVLPCCPTPEPLRDYREELVLDGAGSG.EL	213
CcLOX	TSSLTAADTEVTFVTFWDESICPPAFVIANHHYQPMKVTLEDV...GHQVHFVNSWYPAHRYKYDRFFPNKIVLPCCPTPEPLRDYREELVLDGAGSG.EL	189
GsLOX	ITSLTATDTEVTFVTFWDESICPPAFVIANHHYQPMKVTLEDV...GHQVHFVNSWYPAHRYKYDRFFPNKIVLPCCPTPEPLRDYREELVLDGAGSG.EL	178
JrLOX	ITSPFGG.ETHVTFWDESICPPAFVIANHHYQPMKVTLEDV...GHQVHFVNSWYPAHRYKYDRFFPNKIVLPCCPTPEPLRDYREELVLDGAGSG.EL	194
MdLOX	ITSLSAG.ETSFTSLDDESHGAPALFVIANHHYQPMKVTLEDV...GHQVHFVNSWYPAHRYKYDRFFPNKIVLPCCPTPEPLRDYREELVLDGAGSG.EL	201
MnLOX	ITSPFAR.ETGTFVTFWDESICPPAFVIANHHYQPMKVTLEDV...GHQVHFVNSWYPAHRYKYDRFFPNKIVLPCCPTPEPLRDYREELVLDGAGSG.EL	211
NtLOX	LTSLSAG.DATVTFWDESICPPAFVIANHHYQPMKVTLEDV...GHQVHFVNSWYPAHRYKYDRFFPNKIVLPCCPTPEPLRDYREELVLDGAGSG.EL	201
OeLOX	FTSLAKDDAMNITFVTFWDESICPPAFVIANHHYQPMKVTLEDV...GHQVHFVNSWYPAHRYKYDRFFPNKIVLPCCPTPEPLRDYREELVLDGAGSG.EL	197
RcLOX	ITPTAV.DTIVTFWDESICPPAFVIANHHYQPMKVTLEDV...GHQVHFVNSWYPAHRYKYDRFFPNKIVLPCCPTPEPLRDYREELVLDGAGSG.EL	195
SiLOX	FTSLTAAEATFVTFWDESICPPAFVIANHHYQPMKVTLEDV...GHQVHFVNSWYPAHRYKYDRFFPNKIVLPCCPTPEPLRDYREELVLDGAGSG.EL	208
Consensus	itsvatsaa dt invtfwdesmgvpaafiiknhhsqfylvkvtledv gbgvhfvnswwypharykydrffvnsnktlylpcqtpeplrkyreelinlrgnsg el	
AaLOX	KRWDRVYDAYVNDLGSPEKQYARPLGSGSDYVYPRRGTRERPKTKDPTNSERLPLSDIVYPRDRFVSHKFSDFLAYAKSLVQLPELALSDLODTNEFFTFDQ	326
AmLOX	KWDRVYDAYVNDLGSPEKQYARPLGSGSDYVYPRRGTRERPKTKDPTNSERLPLSDIVYPRDRFVSHKFSDFLAYAKSLVQLPELALSDLODTNEFFTFDQ	322
AtLOX	KWDRVYDAYVNDLGSPEKQYARPLGSGSDYVYPRRGTRERPKTKDPTNSERLPLSDIVYPRDRFVSHKFSDFLAYAKSLVQLPELALSDLODTNEFFTFDQ	326
CcLOX	KWDRVYDAYVNDLGSPEKQYARPLGSGSDYVYPRRGTRERPKTKDPTNSERLPLSDIVYPRDRFVSHKFSDFLAYAKSLVQLPELALSDLODTNEFFTFDQ	301
GsLOX	KWDRVYDAYVNDLGSPEKQYARPLGSGSDYVYPRRGTRERPKTKDPTNSERLPLSDIVYPRDRFVSHKFSDFLAYAKSLVQLPELALSDLODTNEFFTFDQ	290
JrLOX	KWDRVYDAYVNDLGSPEKQYARPLGSGSDYVYPRRGTRERPKTKDPTNSERLPLSDIVYPRDRFVSHKFSDFLAYAKSLVQLPELALSDLODTNEFFTFDQ	317
MdLOX	KWDRVYDAYVNDLGSPEKQYARPLGSGSDYVYPRRGTRERPKTKDPTNSERLPLSDIVYPRDRFVSHKFSDFLAYAKSLVQLPELALSDLODTNEFFTFDQ	306
MnLOX	KWDRVYDAYVNDLGSPEKQYARPLGSGSDYVYPRRGTRERPKTKDPTNSERLPLSDIVYPRDRFVSHKFSDFLAYAKSLVQLPELALSDLODTNEFFTFDQ	324
NtLOX	KWDRVYDAYVNDLGSPEKQYARPLGSGSDYVYPRRGTRERPKTKDPTNSERLPLSDIVYPRDRFVSHKFSDFLAYAKSLVQLPELALSDLODTNEFFTFDQ	314
OeLOX	KWDRVYDAYVNDLGSPEKQYARPLGSGSDYVYPRRGTRERPKTKDPTNSERLPLSDIVYPRDRFVSHKFSDFLAYAKSLVQLPELALSDLODTNEFFTFDQ	310
RcLOX	KWDRVYDAYVNDLGSPEKQYARPLGSGSDYVYPRRGTRERPKTKDPTNSERLPLSDIVYPRDRFVSHKFSDFLAYAKSLVQLPELALSDLODTNEFFTFDQ	308
SiLOX	KWDRVYDAYVNDLGSPEKQYARPLGSGSDYVYPRRGTRERPKTKDPTNSERLPLSDIVYPRDRFVSHKFSDFLAYAKSLVQLPELALSDLODTNEFFTFDQ	321
Consensus	kwdrvdydayvndlgspdkqyarpvlgsgskeypprrgtrerkpktdpnsesrplplndivprdrfshkfsdfayakslvqlpelalldotnefftfed	
AaLOX	VNLVGGKIKLPGVPTSKIKDCTP...EMLKELRSDEGERLRFMPDVIKDRSAWRTEBFCREMLAGVSPVITRRLOQPPPSKLDHKNYGNTSSMTRQIEKMNGLTV	439
AmLOX	MDLVEGGIKLPGDHTLDKIRELVP...EMLKELRSDEGERLRFMPDVIKDRSAWRTEBFCREMLAGVSPVITRRLOQPPPSKLDHKNYGNTSSMTRQIEKMNGLTV	435
AtLOX	VNLVGGKIKLPGVPTSKIKDCTP...EMLKELRSDEGERLRFMPDVIKDRSAWRTEBFCREMLAGVSPVITRRLOQPPPSKLDHKNYGNTSSMTRQIEKMNGLTV	439
CcLOX	VNLVGGKIKLPGVPTSKIKDCTP...EMLKELRSDEGERLRFMPDVIKDRSAWRTEBFCREMLAGVSPVITRRLOQPPPSKLDHKNYGNTSSMTRQIEKMNGLTV	414
GsLOX	VNLVGGKIKLPGVPTSKIKDCTP...EMLKELRSDEGERLRFMPDVIKDRSAWRTEBFCREMLAGVSPVITRRLOQPPPSKLDHKNYGNTSSMTRQIEKMNGLTV	403
JrLOX	VNLVGGKIKLPGVPTSKIKDCTP...EMLKELRSDEGERLRFMPDVIKDRSAWRTEBFCREMLAGVSPVITRRLOQPPPSKLDHKNYGNTSSMTRQIEKMNGLTV	420
MdLOX	VNLVGGKIKLPGVPTSKIKDCTP...EMLKELRSDEGERLRFMPDVIKDRSAWRTEBFCREMLAGVSPVITRRLOQPPPSKLDHKNYGNTSSMTRQIEKMNGLTV	429
MnLOX	VNLVGGKIKLPGVPTSKIKDCTP...EMLKELRSDEGERLRFMPDVIKDRSAWRTEBFCREMLAGVSPVITRRLOQPPPSKLDHKNYGNTSSMTRQIEKMNGLTV	437
NtLOX	VNLVGGKIKLPGVPTSKIKDCTP...EMLKELRSDEGERLRFMPDVIKDRSAWRTEBFCREMLAGVSPVITRRLOQPPPSKLDHKNYGNTSSMTRQIEKMNGLTV	426
OeLOX	VNLVGGKIKLPGVPTSKIKDCTP...EMLKELRSDEGERLRFMPDVIKDRSAWRTEBFCREMLAGVSPVITRRLOQPPPSKLDHKNYGNTSSMTRQIEKMNGLTV	423
RcLOX	VNLVGGKIKLPGVPTSKIKDCTP...EMLKELRSDEGERLRFMPDVIKDRSAWRTEBFCREMLAGVSPVITRRLOQPPPSKLDHKNYGNTSSMTRQIEKMNGLTV	421
SiLOX	VNLVGGKIKLPGVPTSKIKDCTP...EMLKELRSDEGERLRFMPDVIKDRSAWRTEBFCREMLAGVSPVITRRLOQPPPSKLDHKNYGNTSSMTRQIEKMNGLTV	434
Consensus	vnlvvggiklpgvptskikdctp...emlkelrsdegerlrfmpdvikdrswrtebfcpremlagvsvpitrloqpppskldhknvgnstssmtrqiekmnngltv	
AaLOX	YEALENRMHFLDHDALMPLYLRINSHDTYATRTLLLDQDGLPLAIELSPHGGDGHGAVSKVTPAEG...VEGSWQLAKAYAANDSGYHQLSHWLTTHAA	549
AmLOX	DEAIAQNKYLFDHDLMLYLRINSHDTYATRTLLLDQDGLPLAIELSPHGGDGHGAVSKVTPAEG...VEGSWQLAKAYAANDSGYHQLSHWLTTHAA	545
AtLOX	QALAEQNKYLFDHDLMLYLRINSHDTYATRTLLLDQDGLPLAIELSPHGGDGHGAVSKVTPAEG...VEGSWQLAKAYAANDSGYHQLSHWLTTHAA	549
CcLOX	DEAIAQNKYLFDHDLMLYLRINSHDTYATRTLLLDQDGLPLAIELSPHGGDGHGAVSKVTPAEG...VEGSWQLAKAYAANDSGYHQLSHWLTTHAA	524
GsLOX	DEAIAQNKYLFDHDLMLYLRINSHDTYATRTLLLDQDGLPLAIELSPHGGDGHGAVSKVTPAEG...VEGSWQLAKAYAANDSGYHQLSHWLTTHAA	530
JrLOX	DEAIAQNKYLFDHDLMLYLRINSHDTYATRTLLLDQDGLPLAIELSPHGGDGHGAVSKVTPAEG...VEGSWQLAKAYAANDSGYHQLSHWLTTHAA	513
MdLOX	DEAIAQNKYLFDHDLMLYLRINSHDTYATRTLLLDQDGLPLAIELSPHGGDGHGAVSKVTPAEG...VEGSWQLAKAYAANDSGYHQLSHWLTTHAA	542
MnLOX	DEAIAQNKYLFDHDLMLYLRINSHDTYATRTLLLDQDGLPLAIELSPHGGDGHGAVSKVTPAEG...VEGSWQLAKAYAANDSGYHQLSHWLTTHAA	547
NtLOX	DEAIAQNKYLFDHDLMLYLRINSHDTYATRTLLLDQDGLPLAIELSPHGGDGHGAVSKVTPAEG...VEGSWQLAKAYAANDSGYHQLSHWLTTHAA	536
OeLOX	DEAIAQNKYLFDHDLMLYLRINSHDTYATRTLLLDQDGLPLAIELSPHGGDGHGAVSKVTPAEG...VEGSWQLAKAYAANDSGYHQLSHWLTTHAA	533
RcLOX	DEAIAQNKYLFDHDLMLYLRINSHDTYATRTLLLDQDGLPLAIELSPHGGDGHGAVSKVTPAEG...VEGSWQLAKAYAANDSGYHQLSHWLTTHAA	544
SiLOX	DEAIAQNKYLFDHDLMLYLRINSHDTYATRTLLLDQDGLPLAIELSPHGGDGHGAVSKVTPAEG...VEGSWQLAKAYAANDSGYHQLSHWLTTHAA	531
Consensus	deaiennkylfdhdalmplylrinsdhtyatrllldqdgtplaieispghgdghgavskvtpaeg vsgswqlakayaandsgyhqlshwltthav	
AaLOX	IEPPIIATNRSLVHPHKLKPHFRDTHINLARQLINAGGLELVVPPAKYAVESVWYKNEFTEQALPDLKRGVAVDSSQPHGRLLIDYDFAVDGEIWS	662
AmLOX	IEPPIIATNRSLVHPHKLKPHFRDTHINLARQLINAGGLELVVPPAKYAVESVWYKNEFTEQALPDLKRGVAVDSSQPHGRLLIDYDFAVDGEIWS	658
AtLOX	IEPPIIATNRSLVHPHKLKPHFRDTHINLARQLINAGGLELVVPPAKYAVESVWYKNEFTEQALPDLKRGVAVDSSQPHGRLLIDYDFAVDGEIWS	662
CcLOX	IEPPIIATNRSLVHPHKLKPHFRDTHINLARQLINAGGLELVVPPAKYAVESVWYKNEFTEQALPDLKRGVAVDSSQPHGRLLIDYDFAVDGEIWS	637
GsLOX	IEPPIIATNRSLVHPHKLKPHFRDTHINLARQLINAGGLELVVPPAKYAVESVWYKNEFTEQALPDLKRGVAVDSSQPHGRLLIDYDFAVDGEIWS	626
JrLOX	IEPPIIATNRSLVHPHKLKPHFRDTHINLARQLINAGGLELVVPPAKYAVESVWYKNEFTEQALPDLKRGVAVDSSQPHGRLLIDYDFAVDGEIWS	643
MdLOX	IEPPIIATNRSLVHPHKLKPHFRDTHINLARQLINAGGLELVVPPAKYAVESVWYKNEFTEQALPDLKRGVAVDSSQPHGRLLIDYDFAVDGEIWS	655
MnLOX	IEPPIIATNRSLVHPHKLKPHFRDTHINLARQLINAGGLELVVPPAKYAVESVWYKNEFTEQALPDLKRGVAVDSSQPHGRLLIDYDFAVDGEIWS	660
NtLOX	IEPPIIATNRSLVHPHKLKPHFRDTHINLARQLINAGGLELVVPPAKYAVESVWYKNEFTEQALPDLKRGVAVDSSQPHGRLLIDYDFAVDGEIWS	649
OeLOX	IEPPIIATNRSLVHPHKLKPHFRDTHINLARQLINAGGLELVVPPAKYAVESVWYKNEFTEQALPDLKRGVAVDSSQPHGRLLIDYDFAVDGEIWS	646
RcLOX	IEPPIIATNRSLVHPHKLKPHFRDTHINLARQLINAGGLELVVPPAKYAVESVWYKNEFTEQALPDLKRGVAVDSSQPHGRLLIDYDFAVDGEIWS	644
SiLOX	IEPPIIATNRSLVHPHKLKPHFRDTHINLARQLINAGGLELVVPPAKYAVESVWYKNEFTEQALPDLKRGVAVDSSQPHGRLLIDYDFAVDGEIWS	657
Consensus	ieppiinatnrslvhpiklphfrdthinalarqlinagglvltvppakyavessvwnvteqalpdlkrgvavdssqphgrllidypfavdgeiws	
AaLOX	AKTHTWREYCSFYPTDELVDSECSWWWLRENGHCKKDEPWPVQVRAEIAEATLITLWASAAHAANVGOQVPYAGLPNRPVTSRRFPFPCPEYAELENDPDL	775
AmLOX	AKTHTWREYCSFYPTDELVDSECSWWWLRENGHCKKDEPWPVQVRAEIAEATLITLWASAAHAANVGOQVPYAGLPNRPVTSRRFPFPCPEYAELENDPDL	771
AtLOX	AKTHTWREYCSFYPTDELVDSECSWWWLRENGHCKKDEPWPVQVRAEIAEATLITLWASAAHAANVGOQVPYAGLPNRPVTSRRFPFPCPEYAELENDPDL	775
CcLOX	AKTHTWREYCSFYPTDELVDSECSWWWLRENGHCKKDEPWPVQVRAEIAEATLITLWASAAHAANVGOQVPYAGLPNRPVTSRRFPFPCPEYAELENDPDL	750
GsLOX	AKTHTWREYCSFYPTDELVDSECSWWWLRENGHCKKDEPWPVQVRAEIAEATLITLWASAAHAANVGOQVPYAGLPNRPVTSRRFPFPCPEYAELENDPDL	739
JrLOX	AKTHTWREYCSFYPTDELVDSECSWWWLRENGHCKKDEPWPVQVRAEIAEATLITLWASAAHAANVGOQVPYAGLPNRPVTSRRFPFPCPEYAELENDPDL	768
MdLOX	AKTHTWREYCSFYPTDELVDSECSWWWLRENGHCKKDEPWPVQVRAEIAEATLITLWASAAHAANVGOQVPYAGLPNRPVTSRRFPFPCPEYAELENDPDL	756
MnLOX	AKTHTWREYCSFYPTDELVDSECSWWWLRENGHCKKDEPWPVQVRAEIAEATLITLWASAAHAANVGOQVPYAGLPNRPVTSRRFPFPCPEYAELENDPDL	773
NtLOX	AKTHTWREYCSFYPTDELVDSECSWWWLRENGHCKKDEPWPVQVRAEIAEATLITLWASAAHAANVGOQVPYAGLPNRPVTSRRFPFPCPEYAELENDPDL	762
OeLOX	AKTHTWREYCSFYPTDELVDSECSWWWLRENGHCKKDEPWPVQVRAEIAEATLITLWASAAHAANVGOQVPYAGLPNRPVTSRRFPFPCPEYAELENDPDL	759
RcLOX	AKTHTWREYCSFYPTDELVDSECSWWWLRENGHCKKDEPWPVQVRAEIAEATLITLWASAAHAANVGOQVPYAGLPNRPVTSRRFPFPCPEYAELENDPDL	757
SiLOX	AKTHTWREYCSFYPTDELVDSECSWWWLRENGHCKKDEPWPVQVRAEIAEATLITLWASAAHAANVGOQVPYAGLPNRPVTSRRFPFPCPEYAELENDPDL	770
Consensus	akthtwreycsfyptdelvdsecswwwlrengchkdeppwpvqraeiaeatlitlwasaahaanvgoqvyaglpnrpvtssrrfpfpcpeyaelesndpdl	
AaLOX	AYLKTITACQLLCSITBLSHSSTDEYVLCGRDTPEDTDAEPLAFAERFRKLLKENLERNKDERLNRNRPVYLLPNTSDYSRGGGLTGIGPINSIS	885
AmLOX	AYLKTITACQLLCSITBLSHSSTDEYVLCGRDTPEDTDAEPLAFAERFRKLLKENLERNKDERLNRNRPVYLLPNTSDYSRGGGLTGIGPINSIS	881
AtLOX	AYLKTITACQLLCSITBLSHSSTDEYVLCGRDTPEDTDAEPLAFAERFRKLLKENLERNKDERLNRNRPVYLLPNTSDYSRGGGLTGIGPINSIS	885
CcLOX	AYLKTITACQLLCSITBLSHSSTDEYVLCGRDTPEDTDAEPLAFAERFRKLLKENLERNKDERLNRNRPVYLLPNTSDYSRGGGLTGIGPINSIS	860
GsLOX	AYLKTITACQLLCSITBLSHSSTDEYVLCGRDTPEDTDAEPLAFAERFRKLLKENLERNKDERLNRNRPVYLLPNTSDYSRGGGLTGIGPINSIS	849
JrLOX	AYLKTITACQLLCSITBLSHSSTDEYVLCGRDTPEDTDAEPLAFAERFRKLLKENLERNKDERLNRNRPVYLLPNTSDYSRGGGLTGIGPINSIS	876
MdLOX	AYLKTITACQLLCSITBLSHSSTDEYVLCGRDTPEDTDAEPLAFAERFRKLLKENLERNKDERLNRNRPVYLLPNTSDYSRGGGLTGIGPINSIS	883
MnLOX	AYLKTITACQLLCSITBLSHSSTDEYVLCGRDTPEDTDAEPLAFAERFRKLLKENLERNKDERLNRNRPVYLLPNTSDYSRGGGLTGIGPINSIS	872
NtLOX	AYLKTITACQLLCSITBLSHSSTDEYVLCGRDTPEDTDAEPLAFAERFRKLLKENLERNKDERLNRNRPVYLLPNTSDYSRGGGLTGIGPINSIS	883
OeLOX	AYLKTITACQLLCSITBLSHSSTDEYVLCGRDTPEDTDAEPLAFAERFRKLLKENLERNKDERLNRNRPVYLLPNTSDYSRGGGLTGIGPINSIS	867
RcLOX	AYLKTITACQLLCSITBLSHSSTDEYVLCGRDTPEDTDAEPLAFAERFRKLLKENLERNKDERLNRNRPVYLLPNTSDYSRGGGLTGIGPINSIS	867
SiLOX	AYLKTITACQLLCSITBLSHSSTDEYVLCGRDTPEDTDAEPLAFAERFRKLLKENLERNKDERLNRNRPVYLLPNTSDYSRGGGLTGIGPINSIS	880
Consensus	aylktitacqlllcsitbllshsstdeylgcrdtpedtdaeplaaferfrkllkenlerrnkderlnrnrvpyllpntsdysrgggltgigpinsis	

图5 金鱼草AmLOX1基因编码的氨基酸序列与其他植物LOX氨基酸序列的同源性比对  
 Fig.5 The homology comparison between AmLOX-coding amino acid sequence and the LOX amino acid sequence from other plants

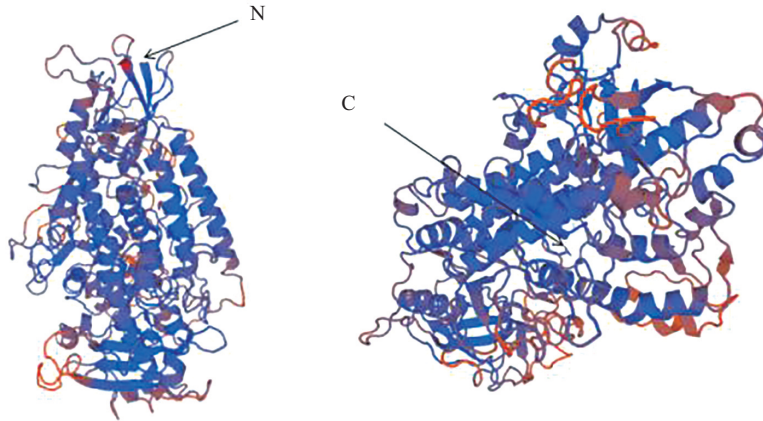
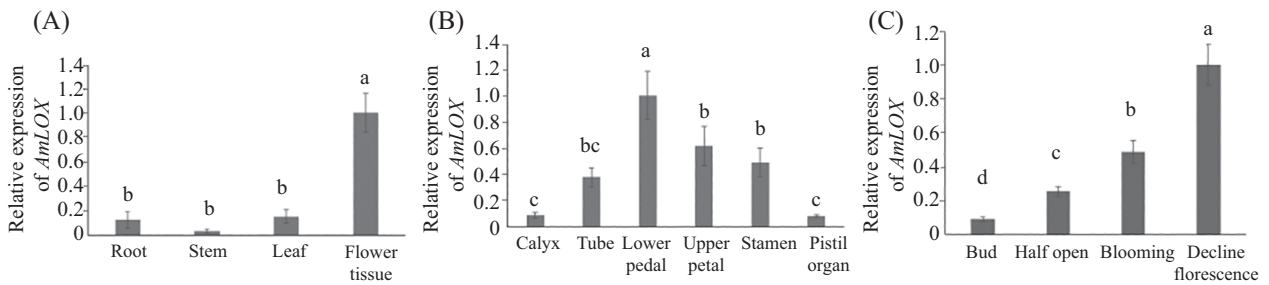


图6 金鱼草*AmLOX1*蛋白质三级结构预测

Fig.6 Prediction of tertiary structure of the deduced *AmLOX1* protein



A: 不同组织*AmLOX1*基因表达的水平。B: 不同花器官*AmLOX1*基因表达的水平。C: 不同花期的*AmLOX1*基因表达的水平。图中的a、b、c为表达差异的显著性分析。

A: the *AmLOX1* expression level of *Antirrhinum majus* L. in different tissues. B: the *AmLOX1* expression level of *Antirrhinum majus* L. in different organs. C: the *AmLOX1* expression level of *Antirrhinum majus* L. in different florescence. The a,b,c in the pictures means the significant analysis.

图7 *AmLOX1*基因表达情况

Fig.7 *AmLOX1* gene expression

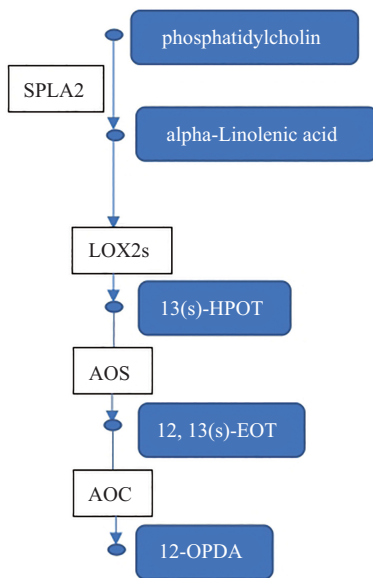


图8 茉莉酸代谢与途径简图

Fig.8 The map of jasmonate metabolic pathway

育有关。张莹莹<sup>[3]</sup>对苹果*LOX*基因的表达分析发现,*LOX*基因与果实软化衰老相以及果实的发育, 苹果花发育盛开后30天到150天, *LOX*的活性随着发育和软化出现两次高峰。而对洋葱的*LOX*表达分析发现, *LOX*基因与洋葱种子发育及老化相关联<sup>[14]</sup>。因此我们推测, 金鱼草*LOX*在衰败花中表达量最高可能与花香成分释放及种子发育相关。

参考文献 (References)

- 1 朱家红, 彭世清. 茉莉酸及其信号传导研究进展. 西北植物学报 (Zhu Jiahong, Peng Shiqing. Jasmonic acid and its signal transmission. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica) 2006; 10: 2166-72.
- 2 赵 艳, 史岩玲, 钱丹丹, 张庆林, 闫 帆, 王庆钰, 等. 大豆脂肪氧化酶-3基因(Lox3)启动子的克隆及其瞬时表达分析. 生物技术通报(Zhao Yan, Shi Yanling, Qian Dandan, Zhang Qinglin, Yan Fan, Wang Qingyu, et al. Cloning and Transient Expression of Soybean Lox3 Gene Promoter. Biotechnology Bulletin) 2010; 9: 65-9.
- 3 张莹莹. 苹果脂氧合酶基因克隆及其表达特性研究. 西北农林

- 科技大学(学位论文)[Zhang Yingying. Cloning and expression analysis of lipoxygenase gene of apple (*Malus Domestica* Brokh). Northwest A&F University], 2010.
- 4 李 晋, 宋 银, 王喆之. 丹参脂氧合酶基因(SmLOX)的克隆及其表达模式研究. 陕西农业科学(Li jin, Song Yin, Wang Zhezhi. Study on cloning and expression pattern of salvia miltiorrhiza lipoxygenase gene (SmLOX). Shaanxi Journal of Agricultural Science) 2013; 4: 19-23.
- 5 朱凤云, 陈鸿鹏, 谭晓风. 油桐种子LOX基因的克隆与生物信息学分析. 经济林研究(Zhu Fengyun, Chen Hongpeng, Tan Xiaofeng. Cloning and bioinformatics analysis of LOX gene in *Vernicia fordii* seed. Nonwood Forest Research) 2013; 2: 13-9.
- 6 宫长荣, 李艳梅, 杨立均. 水分胁迫下离体烟叶中脂氧合酶活性、水杨酸与茉莉酸积累的关系. 中国农业科学(Gong Changrong, Li Yanmei, YangLijun. Relationship between LOX activity and SA and JA accunulations in tobacco leaves under water stress. Scientia Agricultura Sinica) 2003; 3: 269-72.
- 7 赵 静, 胡增辉, 冷平生, 杨晓红. 两个金鱼草品种香气成分分析. 北京农学院学报(Zhao Jing, Hu Zenghui, Leng Pingsheng, Yang Xiaohong. Analysis on fragrance composition of two snapdragon cultivars. Journal of Beijing University of agricurure) 2013; 3: 24-8.
- 8 Dudareva N, Pichersky E. Biochemical and molecular genetic aspects of floral scents. *Plant Physiol* 2000; 122(3): 627-33.
- 9 李莹莹. 花香挥发物的主要成分及其影响因素. 北方园艺(Li Yingying. The main composition and affecting factors of aroma volatiles in flowers. Northern horticulture) 2012; 6: 184-7.
- 10 Schade F, Legge RI, Thompson JE. Fragrance volatile of developing and senescing carnation flowers. *Phytochemistry* 2001; (56): 703-10.
- 11 成思琼. 黄瓜果实脂氧合酶CsLOXs基因的表达特性分析. 西北农林科技大学(学位论文)(Cheng Siqiong. Study on the characteristics expression of CsLOXs genes in cucumber fruit. Northwest A&F University), 2015.
- 12 连青龙, 辛海波, 张自由, 钟雄辉, 罗 弦, 义鸣放. 唐菖蒲茉莉酸生物合成关键酶基因LOX1的克隆及表达分析. 园艺学报(Lian Qinglong, Xin Haibo, Zhang Ziyou, Zhong Xionghui, Luo Xian, Yi Mingfang. Cloning and expression analysis of lipoxygenase-1 gene encoding a key enzyme of the biosynthesis of jasmonic acid from gladiolus hybridus. ACTA Horticulture Sinica) 2011; 38(3): 563-70.
- 13 Feussner I, Kühn H, Wasternack C. Lipoxygenase-dependent degradation of storage lipids. *Trends Plant Sci* 2001; 6(6): 268-73
- 14 李 倩, 赵 泓, 刘倩纯, 温常龙, 黄 科, 王永勤. 洋葱AcLOX1基因的克隆及其表达分析. 农业生物技术学报(Li Qian, Zhao Hong, Liu Qianchun, Wen Changlong, Huang Ke, Wang Yongqin. Cloning and expression analysis of AcLOX1 gene in onion (*Allium cepa*). Journal of Agricultural Biotechnology) 2016; 24(4): 548-56.