

水稻蛋白激酶基因 *Pti1* 的克隆与分析

时振英, 祝莉莉, 何光存*

(武汉大学生命科学学院植物发育生物学教育部重点实验室, 武汉 430072)

摘要: 植物 *Pti1* 基因编码丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 是重要的抗病相关基因。在水稻抗褐飞虱基因 *Qbp1* 所在的染色体区段存在一个与番茄 *Pti1* 基因高度同源的序列片段。从抗虫水稻 B5 中分离了 *Pti1* 基因的全长 cDNA 克隆, 测定了基因组序列。分析发现, 水稻中 *Pti1* 基因长度有 5 644 bp, 含有 7 个内含子, 编码 368 个氨基酸的激酶蛋白。其蛋白质的 C 末端在不同植物之间具有高度的保守性, 而 N 末端的变异则相对较大。对不同水稻材料 *Pti1* 基因的序列进行了比较, 发现药用野生稻与栽培稻之间存在较大的差异, 而栽培稻各品种之间的差异较小。讨论了 *Pti1* 基因在抗虫防卫反应中可能的作用。

关键词: 水稻; *Pti1* 基因; 克隆

中图分类号: Q943

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2004)03-0187-06

Cloning and Analysis of the Protein Kinase-encoding Gene *Pti1* in Rice

SHI Zhen-Ying, ZHU Li-Li, HE Guang-Cun*

(Key Laboratory of Ministry of Education for Plant Developmental Biology, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: *Pti1* gene in plant is an important disease-resistance-related gene, encoding for a ser/thr protein kinase. In the genomic region of rice where the brown planthopper resistant gene *Qbp1* lies, there is a gene with high homology to the *Pti1* gene in tomato. We isolated the full-length cDNA of *Pti1* gene from insect-resistant rice B5 and the corresponding genomic fragment. The *Pti1* gene in rice is 5 644 bp long, containing 7 introns and coding for a protein kinase of 368 aa. The C end of its protein is highly conservative and N end is relatively variable. The genomic fragments of this gene in several rice species including *Oryza officinalis* Wall ex Watt were sequenced and compared, revealing great difference between wild rice and cultivated rice; but the difference among cultivated rice species is faint. The possible role *Pti1* gene may play in rice resistance against brown planthopper was discussed.

Key words: Rice; *Pti1* gene; Homology

植物抗病性及其机制研究是植物抗病育种中的热点问题。Flor 等在研究亚麻锈病时, 提出了基因对基因假说(gene-for-gene)解释植物抗病机理^[1]。该假说认为植物受到病原物侵染后, 植物体内抗病 *R* 基因编码的产物可识别出病原物无毒 *Avr* 基因所编码的产物, 进而激发一系列防卫反应, 产生抗性。在一系列的防卫反应中, 蛋白激酶基因通常是重要的组成部分, 通过磷酸化和去磷酸化的反应在植物和动物的防卫信号传导过程中发挥重要作用。*Pto* 基因是应用图位克隆的方法从番茄(*Lycopersion es-*

culentum) 中克隆到的抗丁香假单孢杆菌(*Pseudomonas syingae* pv. *tomato*) 的基因, 编码一个细胞内的蛋白激酶^[2]。病原物侵染时可能直接激活 *Pto* 蛋白的激酶活性, 并将结合的 *Pti1* 蛋白磷酸化, 进而引发其下游蛋白的一系列磷酸化级联反应, 从而产生抗病性^[3,4]。*Pti1* 基因编码丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 是最早被发现的与 *Pto* 基因直接作用的下游基因之一, 可能在 *R* 基因和植物防卫基因之间建立了直接的联系, 是一个重要的与抗病相关的基因^[5,6]。*Pti1* 的同源基因在不同植物中广泛存在, 如

收稿日期: 2003-09-22, 修回日期: 2003-11-13。

作者简介: 时振英(1975—), 女, 博士, 现主要从事植物分子生物学及生物工程研究。

* 通讯作者(E-mail: gche@whu.edu.cn)。

拟南芥、大豆等^[7]。不同植物的 *Pti1* 基因的比较研究,对于进一步阐明植物的抗性机制以及开发抗性资源具有重要的意义。

褐飞虱(*Nilaparvata lugens* Stål)是危害严重的水稻害虫之一。我们通过对药用野生稻(*O. officinalis* Wall ex Watt)转育而成的褐飞虱抗性材料 B5 的遗传分析,发现了第三染色体 RFLP 分子标记 R1925~G1318 之间有一个抗褐飞虱主效基因^[8,9]。为了分离该基因,我们构建了该区段的精细图谱和物理图谱^[10],发现存在一个 *Pti1* 基因。

为了研究水稻中 *Pti1* 基因的功能,我们从抗虫水稻品种 B5 中克隆了 *Pti1* 基因,并就 *Pti1* 基因结构和 *Pti1* 蛋白在不同水稻品种和不同植物之间进行了比较和分析。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料有药用野生稻、栽培稻明恢 63、H1493 和 B5。H1493 为粳稻,明恢 63 和 B5 为籼稻。B5 为药用野生稻与栽培稻杂交后代的渗入系,对褐飞虱、白背飞虱、白叶枯病、细菌条纹病等多种病虫害具有抗性^[11,12]。

水稻材料 B5 的全长 cDNA 的噬菌体文库为本实验室资源。

1.2 *Pti1* 全长 cDNA 克隆的分离

cDNA 克隆的筛选:通过分析番茄中 *Pti1* 蛋白质序列与水稻中的相应碱基序列,设计了一对引物, P1 为 ATGCTCGAGGTCTCGAATTCTCTCGT-CGC 和 P2 为 ATGTCTAGAGTCTCGAATTCTCTCGTCGC,从水稻基因组中扩增出 230 bp 的

PCR 产物。扩增条件为:94℃ 4 min, (94℃ 45 s, 58℃ 45 s, 72℃ 45 s) 30 cycles, 72℃ 10 min。测序验证 PCR 产物的正确性后,作为 B5 cDNA 噬菌体文库筛选的探针。噬菌体文库筛选的方法按照分子克隆实验指南^[13]。

1.3 *Pti1* 基因组序列的分析

利用国际水稻基因组计划中 Nipponbare 的测序结果,在 *Pti1* 对应的基因组序列上设计相互衔接的 5 对引物覆盖整个 *Pti1* 基因组序列。利用这 5 对引物分别在明恢 63、H1493、B5 和药用野生稻的总 DNA 中扩增出 *Pti1* 的整个基因组序列。一般扩增条件为:94℃ 4 min, (94℃ 45 s, 58℃ 45 s, 72℃ 1 min) 30 cycles, 72℃ 10 min。PCR 产物分别克隆到 TA 载体(Promega 公司)后测序。

1.4 DNA 序列测序与分析

所有序列分析采用标准试剂盒在 ABI377 上完成。序列拼接等分析采用 DNASTar 软件。

2 结果

2.1 抗虫水稻 B5 中 *Pti1* 基因的 cDNA 克隆的获得

经研究分析,抗褐飞虱 *Qbp1* 基因区域由 2 个 Nipponbare BAC 克隆和 5 个 B5 文库克隆覆盖^[10]。通过回交分离世代中重组单株的分析,进而将 *Qbp1* 基因定位到 40 kb 的区域(时振英,未发表资料),内有一个与番茄 *Pti1* 基因高度同源的基因。根据 *Pti1* 蛋白质在水稻中对应的碱基序列,设计了引物 P1 和 P2,在水稻基因组中扩增出符合预计的 230 bp 的 PCR 产物,经测序验证后,纯化的 PCR 产物直接作为筛选的探针。利用该探针对水稻 B5 全长 cDNA 的噬菌体文库进行筛选,筛选共进行了 3 次(图 1),

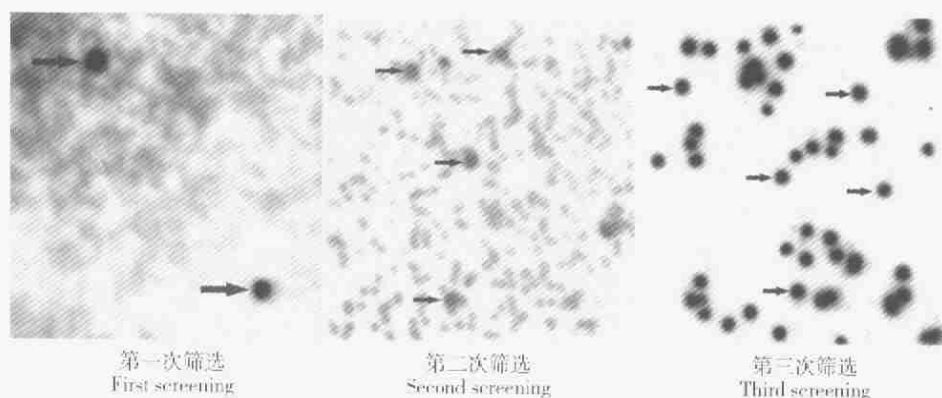


图 1 水稻品种 B5 cDNA 噬菌体文库中 *Pti1* 基因的筛选(箭头所指的为筛选所获得的阳性克隆,第三次筛选获得单个阳性噬菌斑)

Fig. 1 Filtration of the B5 cDNA library to get the *Pti1* gene cDNA clone. Positive clones of each time were indicated by arrowhead (Positive clones were indicated by arrowhead, single positive clones were obtained in the third time selection)

gcttttaactctgagcagcagcaaccgagctgcgcgagggctgcgcacgcgcgcgcgcctgcgcctgcgcgcacattccctccacccctgagcctgtgtgcgc
gcccaagctcagctctcgctctgcctctgaaacctagctgcctccctgggtgggtgtctcgaaattctctcgctgcgcacatgccctgaaccgcgcgggtgatttgcgtt
tgettgtGAGTGGTAGCCCTCTGCTCTGATCGCTGTTCCATCAGTGTGGGTTTTGCTTCTCACTTTGCTGTACGCGTAATTCAAATCCATACTTCTGTCTGG
GAGTGGATACCCCAATCCATCCTGGTTATTAGCACTTTGATTATTATTATTATTATTATTATTGCTTATTTAAGCGATTGCGATTGCTACGCTCGCATAG
TACCTGAAATAGCCGTACTACAGTGGTTGTAGATTACTAGATTTTAGGTTTACTGCTCTAAGAAAGGCATGTTGGTCCACACTGTTGCATGTTGAATCTGG
AAACTGTAAGCTTTTCCGTAGAGGAAAACAGTAAGACTCTAGTTGACTTAGTTC AACCTGCTGAGAGTACAGATGTTGTACACTGTACAGAAGTGTACTTCT
TGCGTAATTTAATGCATTTGGTCAATTATGTGCTCTGATCTTTATACGTAAGCTAATCTCCGTGCATTGGTTCAGTgtgttcaaggttgaggagacaatat
gaggcagctgggtttgtgttaattgccactttgacgagggagatgaccatgggaaggaaagctccaattctcagggcaataagatggatgGTGCGGTTTATTTTG
TGCGTGTGTTTTCCATGTGAATTTTCAGTAACAGTTGGCCATTATAAGATTGCTATAGAACCATCGCTTACTCCTTTTGTATGTATGCAATTGGAGTAAGGA
CCATACTAACATATGCGCCACTATATTTACCATCCTATGCAAAATGGCTGGAAGATGTTTCAAGCTGTGTTCTGCGGAATGCCAGTTCTTACTTTTATATAGCA
AGCTACTGTTGCATTAGCAAATTACACTTATATCTTTTGAGCCTAATTCACAAAAAGTTCTGTGGTGGTAAAGTTGGGTGTTAATGCTCTTGTGAAAACC
CCAAAGGAACCTTGGTCTTTCTGTGTTTATTTCACTTGAACATTGGAAGATATTCTGCTATGATCTATTGAGTAAATAATTTGGAATGTGTATGATGTA
TGACTACTAGCTGATATGAAGTTTGTATGTTGAAGTTGAACCTTTCTGATTATATTGTTATGTTTCCATTATCAGcacaagcacaaggtcttcaaaacctctc
gtcgtgtaacctgaaccagagatagccccacttacaattgatgtccctgagttgtcactggaggacttaaaacaaaaaacccgacaattttggatcaaatgctc
tgaattgttgaaggttcataatggacaggtataccatgccactttggatgatggaggcagcagcagttaaaaaattggatgcactctgaaaaatgagctcaaca
cgaatttttgaacacgGTGATCACTTGCGAAGATCATAGGTTTCTAGCTAAATTTTCACTTGTCTATTGTTCTGCTCTCAGGACTGTGACAGTGTCAACAAT
CTAAAGCTATTACTTTTGTATTGTTTTTGTGACTCTAGctctccagcgcataaggctaaagcatgaaaaatcttgtggagatgttgggttactgtgtaga
gggcaattatcgtatactggcatacgaatttgcgaccatgggttcccttcatagtgttcttcataGTAAGACCTTGAGCACCTACTATCTTTAGCATGTGGAA
TGCAATCCAGGTGAGTTAATACTACTCTTTAACACAACAGaagaaaaaggagttcaaggtgcgcagcctggtcctgtacttgattggacgcagagggta
aaaaattgctatagaggcagcacaaggtcttagagtacctgcatgagaaggttcagcctcaatcatctcgtggacacagatcaagcaatgtacttctgtttg
aggacttcaaggcacaatttgcagatttcaatctctttaaactcaagctccagatattggcagcagcgccttcattcaactcgtgtattaggaaacctttggatataca
tgcaccagcGTAATGCTTAATTTATACCAATGCATTTCTCATGAACCTACTATATCGCGTCTTACTTCAATTTTAAATCCAGCCCAACAGTATGTTAAATA
TATGTTTTGAACCAACTAAAATATGTATAACTGACATAGCTGTTATGAAAACCTAGACAGTCACTGTGGTGCTGTTATGTTGCTGAATGGTGGTCCCATCT
TTAAGGATTGTGCCCTTGAATGTCAAAGGTCTGATATGTTTTTTTGGATGAACAAATTCGTAGGTTATCCTCGTCTAGTTTGCTTTCATATTTTGTCTGTG
CTTGATGGTGTATTTCATGGGCAAGGTGTCACATACCTTCAGGTTTCATATCGAATAGACATCCACAGAGCTATCTTATGTGCTCCTAAGATCAGAACTGTGT
ACTCTCAGTGCCTCCAAAGTAACACCAGAGGCAGTGGCTGGCTGGCAGCCCTGCCGACCAGGGCCACATCGATGAAGCCTCAAATGTGGAGGCCATGGCACA
TACTGTGAGACTTACTGACTAAATGACAATGGACCAACAGGTGAGTGGTTGTGGTATTTTTTCTTTTGAAGAACTCCCTGATCCAACTGATTGACT
TCTTTTTTCAAGATTGTGTGAAAACTGCTGAGGCTAGTGAATATAGAAATTCATAGTATAACTTTTTAGAACTAAAGCCGACTTGGTGATCCTGGGCC
TTGACGAGGTGGAAGATGCTGCTGGGTTTATAATTTGCAACAGCTTTTTTTACACATTTGCAAGTAAATCAATGTTGCTATCTCAAGAGATGACAAGT
AATTCGACCTTACTGTTTAAATCCAAAGCAATGACTATTTTTTTCTGGCCATTACACTTCCATTTTGATAGATGATATCTGTTATACCTTTATGATTTGAG
TCTTCTGACATTGTAGTACTATTTTGGCCCTTAAGCTATGTATGCTATTTTTCTGTACGAAATAGCAAACTGATTTTTTCCCTTAAGTTTAAATCGGTTT
GGCAGGAAACATCAAATAGTACGTAGAATAAGTATTGAATGCCTTTGGGTTGTAGTGAATTTATGCATGTAGCTGTTCTTACATAACCTTTTTTTTTTGTG
TGAAAAACAGCTGACAATGGTACCATGTAGGTGTTGCCAAAAACAACCTTTATTTATTTTGGGTGTGATTATGCCATTTAAGGTCTGTCAACACAACCACTAT
CTTTGGATAGTGCTTATATTTTTTTTGGGAAAGCCAACTTATTTTGGGTGTGAATATGCCATTTTGGAGAGAGCTGTGTCAACACAACCACTATTTGGGC
AGTGCCTTAATTTCTTTTTGGGGAAAGTCAACTGACATGTTATATCCATATTCGTGTGAACCACTATCTGCATGCAGCATTCAATCTGGAAGGTATTGCGAGAA
CATTGCTAATTTGCATAATGAGTGTGATGCATCTAAGTGATTATAAACATCATGTTGGATTACCTAGGCTGAATTAAGCAGGAACCTTTACGAACCTTGGGAA
AAAAACCCCTTTGAGCACTATTATGATTATATTTTGTGTTGTCGATATTTCTCTACCTGCAAGCTATTATATCTGGAGCAAACTAATGCCTTTACTT
TCCTCTGCC TACAAAGGAAAACTGTGCTACTAATTTTGTGTTTATCTGTTTGGTGGTATTGATCTTTTACCGCTCTGTGTGAAGTTAAATGTAATTTCT
TTAGAAACAAGTCTTTGGTGTGATGTTTGTCCAGGTAGATGAACGTTTCAGCGAAATGAGGATAAGTGTCTTGGATGAGTTGTGGAAATCTTGATGCCGT
GTATTTTTATGCATTTCTCTCTTAACCTTATATAACCCCTACTTGCCGCAgatatgctatgactggccagctgacgcagagaagagtgtgtgtacagttttgggtg
tagttcttttggaaactcctgactggaaggaaaccagttggaccacacaaatgcctcggggacagcacaaggtctagtcacttggGTAAGTTGTCTCTACCACCTAAA
AGCGGAGTCGTCCATACGCTCCTTCCACGCGCTCACAAAGCACACAAGCACTGCCTTCTAGGCGCTGAAAATAACAGAAAAATACCAGTTGATGCGCCTTATG
CTCGATCCAGCCCATCCCACTCGTATGGGCCCATGCAACCCATTCTCAGTTGATTCGTCTGTTGCAACGCACGGACATGTTACTAGTTTCTTATCTTGT
TTTGCTTTGGTGTCTAATTTTTTGGTCAATATAATAATTTTCTTCAATTTCTACTGGTTATATGTAAAGACCAAGAAAGTAATTAGTGGCAAGAGAAGACAT
CATTGAGCAACATGAAACAAAAAGAACTAGCCAAACCAAGCACTGCAAAACCGCTATGAACCTCTAGCAGACCTCATCAACTATTGAGAGTTTCAATGAAT
CAGCACTGCAAACTGACAAATACTGTGCGTAACCAAGGACCTGACATCCCTAGGACTAAATGATTCTTAAATAATAAATTAGTAGGTTTATGAGTTCTG
CTTTGGATTGATTATTTGAATAAAAAACAACCTGTATCTGGATTGCTATAGAGAACCTTGATTCTCAAATAGTTTACATTTTTCTTTTTTCTCAAA
TACATATTACACCTTTTCTGATTCCATCTAATTAGCCAGACTACTCCCGTAGTGAGATAGAAAAGGTAGTTGTTCCAAATTTAAGAAAAGGTAGTTGTTCCAA
ATTTAACTGTTTGTGTAATTTTCTCTCAAGctactcctagattaaagcgaagaaggtcaacaacatgtgtagatccttaggttaaagagtgaatactctcc
aaagggaggttgcataagGTCAGTCTCTGCTCTCTCTCTCTCACACCCACCCACACATTACACACACTATGATGCACATGCTTTTTACATCATTGGAGTAG
CAGTCTGAAATAATGTATGTTGATGTAAGTGTGCTGAGcttgcctgcggtggcagctctttgtgtccaatacgaagcagagttcaggcccaa
catgagcatgttgcataaggcgcctctctctctgttccaacaaaaaccgacagtgccagctgcctcagagccggcgccagcacaactgagaaatgaagatgttagc
tcatggttagctctccggcacatgcagcttgtaactcagcgattctgtgtgataattgcaattgggtttaagaagttctcttttgggggttctctgttggatgc
agatcagcatggatttctcttgccttttgtgtactcacttagcttttgcggtttgagatttgcctgtacataggctgtgttagtggaagaataactgctctctc
ttttccacagcttcaacttcagaggtgtcaaatactccagacatcgtttgaactttcaatagatgcaacatgttctgaattt

[g] 为最长的 mRNA 起始位点; [c] 为加 poly A 的位点; 下划线的字母是蛋白质编码序列; 小写字母是外显子序列; 大写字母是内含子序列

[g] Indicates the start point of the longest mRNA; **[c]** Indicates the polyA adding point; Underlined parts show the protein-coding region and capitalized letters parts indicate the introns

图 2 水稻品种 B5 中 *Pti1* 基因的结构

Fig. 2 The structure of *Pti1* gene in rice B5

最终得到独立的单个噬菌斑。对该噬菌斑的分析发现有 1.7 kb 左右的插入,测序表明是 *Pti1* 基因的全长 cDNA。通过 5 对引物的扩增,克隆了 B5 中 *Pti1* 基因的基因组序列。图 2 显示了品种 B5 中 *Pti1* 基因组序列与 cDNA 序列的分析结果,表明水稻中 *Pti1* 基因是一个较长的基因,其基因组序列至少有 5 644 bp,有 7 个内含子,编码 368 个氨基酸的激酶蛋白。

2.2 不同水稻品种 *Pti1* 基因序列的比较

同时从水稻品种明恢 63、H1493、B5 和药用野生稻中克隆了 *Pti1* 基因的基因组序列,并与水稻基因组测序计划所用品种 Nipponbare 的序列进行了比较。发现供试药用野生稻与各栽培稻之间的序列

差异较大,而供试栽培稻品种之间的差异较小。

参照 B5 的 cDNA 序列,比较了 B5 和药用野生稻的基因组序列,发现在 B5 中,外显子部位存在 33 个单碱基的突变;内含子部位有较大区段的插入和缺失,4 个碱基以上的缺失有 8 段,其中最长的缺失有 215 个碱基,4 个碱基以上的插入有 3 段。这些差异可能意味着药用野生稻 *Pti1* 蛋白同 B5 比较而言,存在较大的功能改变。

栽培品种间该基因的差异相对较小,无论是在外显子区还是在内含子区都仅有单个碱基或者少数几个碱基的突变,分布没有明显的规律。其中,籼稻和粳稻之间的差异则相对较大,因此在聚类分析时被划归到不同的类别中。图 3 显示了这种比较的结果。

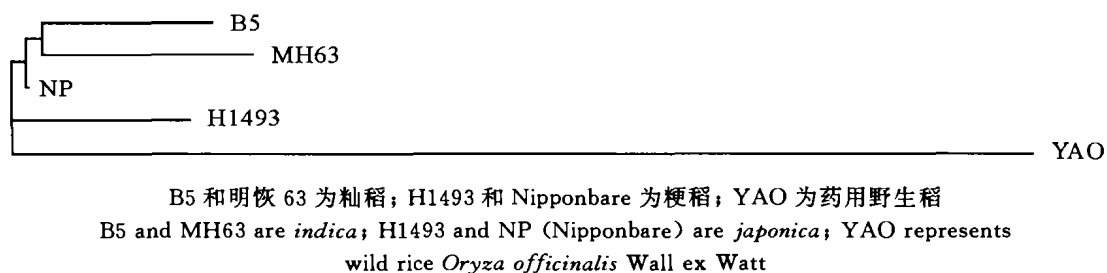


图 3 不同水稻材料 *Pti1* 基因的谱系树

Fig. 3 Phylogenetic tree of *Pti1* genes of rice

2.3 *Pti1* 基因编码产物在不同种植物中的比较

目前已发现很多植物中存在有相应的 *Pti1* 基因。本研究对拟南芥、番茄、以及大豆中的 *Pti1* 基因所编码的蛋白质与我们所推测的水稻 B5 中的 *Pti1* 蛋白质序列进行了比较,发现该基因在不同植物中存在较高的同源性(图 4),而且其保守区位于蛋白质的 C 末端,而 N 末端的变异则相对较大。

3 讨论

目前为止,已经克隆的抗性基因(包括抗病基因和植物抗逆境的基因)很多属于蛋白激酶基因,或者含有蛋白激酶的同源结构域^[6]。在番茄的丁香假单胞杆菌抗性防卫体系中,基因 *Pto* 和 *Pti1* 都编码激酶蛋白,*Pti1* 作为 *Pto* 的一个下游基因,介导信号的级联放大反应,对病原菌的抗性发挥重要的作用^[5,6]。我们实验室在对第三染色体上抗褐飞虱基因 *Qbp1* 进行分析时克隆了 *Pti1* 基因。结果表明,水稻中 *Pti1* 基因至少有 5 644 bp,有 7 个内含子,编码 368 个氨基酸的蛋白。

通过 SBASE 数据库(<http://hydra.icgeb.trieste.it/~kristian/SBASE>)对水稻的 *Pti1* 蛋白质功

能结构进行分析,表明该蛋白质主要包含 2 个功能结构域:N 端的 10~87 aa 为胞外功能域(extracellular),C 端的 111~301 aa 为腺苷酸鸟苷酸环化酶催化功能域即激酶催化功能域(adenylate and guanylate cyclase catalytic domain)。对在不同植物中的 *Pti1* 蛋白质序列分析,发现 C 端激酶催化功能域在单子叶与双子叶中都具有高度的保守性,表明激酶催化功能域在长期的进化中变异很小,这也说明 *Pti1* 蛋白质在植物中可能存在重要功能。同时该蛋白质的 N 端存在较大的变异性,因此有待于进一步研究 *Pti1* 蛋白质 C 端的保守性和 N 端的变异性与功能的关系。对不同水稻品种 *Pti1* 基因组序列的比较,显示出药用野生稻和栽培稻之间的差异大于栽培稻内籼稻和粳稻之间的差异,说明该基因有一定的进化意义。

在番茄中,*Pti1* 基因编码的蛋白激酶在病虫害的防卫应答或信号的级联放大反应起重要作用,而在水稻中其功能仍不明了。我们的研究证明了 *Pti1* 基因存在于抗褐飞虱候选区域内,并且在抗虫与感虫水稻之间,栽培稻与野生稻之间存在结构的差异。暗示着该基因在不同品种间功能有所不同。我们下

Ptil-Rice	(1)	-----MRQWFCNCNHFDEEDDHGK-ERSNAQGN
Ptil-Arabidopsis	(1)	MYPMDSDYHRRGLVANDRSPAQFVRLDKPRAVDLLYGKREKMRRWLCCACHVEEPYHSSENEHLRSPKH
Ptil-Soybean	(1)	-----MRRWLCCCTCQVEESYPSNENEHLKSPRN
Ptil-Tomato	(1)	-----MSCFSCDDDDMHRATDNGPFMAHN
		* *
Ptil-Rice	(28)	KMDAKQKSSKPPA-GQPEPEIAPLTIDVPELSLEDLKQKTDNFGSNALIGEGSYGRVYHATLDDGRQAAV
Ptil-Arabidopsis	(71)	HNDFGHHTRKPQAAVKPDALKEPPSIDVPALSLDELKEKTDNFGSKSLIGEGSYGRAYATLKDGA VAV
Ptil-Soybean	(29)	YGDGNQKGSKVSAPVKPETQKAPPIEAPALSLDELKEKTDNFGSKALIGEGSYGRVYATLNNKAVAV
Ptil-Tomato	(26)	SAGNNGGQRATESAQRETQTVNIQPIAVPSIAVDELKDITDNFGSKALIGEGSYGRVYHGVLSGRAAAI
		* * ** ***** * * *
Ptil-Rice	(97)	KKLDAS-ENEPNDEFLKQVSQASRLKHENLVEMLGYCVEGNRYILAYEFATMGSLHDLHGRKGVQGAQP
Ptil-Arabidopsis	(141)	KKLDNAAEPESNVEFLTQVSRVSKLKHDFVELFGYCVEGNFRILAYEFATMGSLHDLHGRKGVQGAQP
Ptil-Soybean	(99)	KKLDVSSEPESENNEFLTQVSMVSRLKDDNFVEMHGYCVEGNRLVLAYEFATMGSLHDLHGRKGVQGAQP
Ptil-Tomato	(96)	KKLDSS--KQPDREFLAQVSMVSRLKDENVVELLGYCVDGGFRVLAYEYAPNGSLHDLHGRKGVKGAQP
		**** *** * * * * * * * * * * *
Ptil-Rice	(166)	GPVLDWTQRVKIAIEAAKGLEYLHEKVQPSIIHRDIRSSNVLLFEDFKAKIADFNLNQAPDMAARLHST
Ptil-Arabidopsis	(211)	GPTLDWIQVRVIAVDAARGLEYLHEKVQPAVIHRDIRSSNVLLFEDFKAKIADFNLNQSPDMAARLHST
Ptil-Soybean	(169)	GPTLDWIQVRVIAVDAARGLEYLHEKVQPIIHRDIRSSNVLLIFEDYKAKIADFNLNQAPDMAARLHST
Ptil-Tomato	(164)	GPVLSWAQRVKIAVGAAGLEYLHEKAQPHIHRDIKSSNILLFDDDVAKIADFNLNQAPDMAARLHST
		** * * * * * * * * * * * * * *
Ptil-Rice	(236)	RVLGTFGYHAPEYAMTGQLTQKSDVYSFGVVLELLTGRKPDVHTMPRGQQSLVTWATPRLSEDKVKQCV
Ptil-Arabidopsis	(281)	RVLGTFGYHAPEYAMTGQLTQKSDVYSFGVVLELLTGRKPDVHTMPRGQQSLVTWATPRLSEDKVKQCV
Ptil-Soybean	(239)	RVLGTFGYHAPEYAMTGQLTQKSDVYSFGVVLELLTGRKPDVHTMPRGQQSLVTWATPRLSEDKVKQCV
Ptil-Tomato	(234)	RVLGTFGYHAPEYAMTGQLSSKSDVYSFGVVLELLTGRKPDVHTLPRGQQSLVTWATPRLSEDKVKQCV
		***** ***** ***** ***** ***** ***** *****
Ptil-Rice	(306)	DPRLKSEYPPKGVAKLAAVAALCVQYEAEFRPNMSIVVKALSPLLQKPAVPAASEPAPATEN
Ptil-Arabidopsis	(351)	DPKLKGEYPPKAVAKLAAVAALCVQYSEFRPNMSIVVKALQPLRSSTAAAVPVQEA-----
Ptil-Soybean	(309)	DPKLKGEYPPKGVAKLAAVAALCVQYEAEFRPNMSIVVKALQPLKSPAPAPAPVPES-----
Ptil-Tomato	(304)	DARLNTDYPPKAIKMAAVAALCVQYEAEFRPNMSIVVKALQPLPRVPS-----
		* * **** * ***** ***** ***** *

番茄、拟南芥、大豆中的 *Pti1* 基因的蛋白序列号分别为: AAC61805、NP-567082、AA092595;
* 表示该位点的氨基酸在 4 种植物中是相同的

The accession numbers of *Pti1* protein in tomato, arabidopsis and soybean are AAC61805,
NP-567082, AA092595 respectively; * indicate the same amino acids in four plants

图 4 *Pti1* 蛋白在拟南芥、水稻(以 B5 为例)、番茄、大豆中的同源性分析

Fig. 4 Analysis of *Pti1* protein from several plants, including arabidopsis, rice, tomato and soybean

一步将通过转基因手段展开对水稻 *Pti1* 基因功能特别是其与水稻抗虫性关系的深入研究。

参考文献:

[1] Flor H H. Complementary genetic system in flax of recombination values in heredity [J]. *Adv Genet*, 1956, 8: 29-54.
[2] Martin G B, Brommonschenkel S, Chunwongse J. Map-based cloning of a protein kinase gene conferring disease resistance in tomato [J]. *Science*, 1993, 262: 1432-1436.

[3] Sessa G, Ascenzo M, Loh Y T. Biochemical properties of two protein kinases involved in disease resistance signaling in tomato [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273: 15 860-15 865.
[4] Zhou J, Tang X, Martin G B. The *Pto* kinase conferring resistance to tomato bacterial speck disease interacts with proteins that bind a cis-element of pathogenesis-related genes [J]. *EMBO J*, 1997, 16: 3 207-3 218.
[5] Zhou J M, Loh Y T, Bressan R Y. The tomato gene *Pti1* encodes a serine/threonine kinase that is phos-

- phorylated by Pto and is involved in the hypersensitive response[J]. *Cell*, 1995, **83**: 925 – 935.
- [6] Hammond-Kosack K E, Jone J D. Plant disease resistance genes[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1997, **48**: 575 – 607.
- [7] Century K S, Shapino A D, Repetti P P, Dahlbeck D, Holub E, Staskawicz B J. NDR1, a pathogen-induced component required for *Arabidopsis* disease resistance[J]. *Science*, 1997, **278**: 1963 – 1965.
- [8] Wang B N, Huang Z, Shu L H, He G C. Mapping of two new brown plant hopper resistance genes from wild rice [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2001, **46**: 1092 – 1095.
- [9] Huang Z, He G C, Shu L H, Zhang Q F. Identification and mapping of two brown plant hopper resistance genes in rice[J]. *Theor Appl Genet*, 2001, **102**: 923 – 934.
- [10] Shi Z Y, Ren X, Weng Q M, He G C. Construction of genomic library of a brown planthopper resistant rice line with transformation-competent vector and identification of clones covering *Qbp1* locus[J]. *Plant Science*, 2003, **165**: 879 – 885.
- [11] 舒理慧, 廖兰杰, 万焕桥. 野生稻抗白叶枯病遗传分析及转育效应研究[J]. 武汉大学学报(自然科学版), 1994, **3**: 95 – 100.
- [12] 杨长举, 杨志慧, 胡建芳, 何光存, 舒理慧. 野生稻转育后代对褐飞虱抗性的研究[J]. 植物保护学报, 1999, **26**: 197 – 202.
- [13] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T 著. 分子克隆实验指南(第 2 版)[M]. 金冬雁, 黎孟枫等译. 北京: 科学出版社, 1996.