

丁泽红,吴春来,颜 彦,等. 木薯海藻糖-6-磷酸酯酶 *MeTPP6* 基因克隆及其表达分析[J]. 江苏农业科学,2019,47(6):31-35.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.06.007

木薯海藻糖-6-磷酸酯酶 *MeTPP6* 基因克隆及其表达分析

丁泽红,吴春来,颜 彦,付莉莉,胡 伟

(中国热带农业科学院热带生物技术研究所,海南海口 571101)

摘要:海藻糖-6-磷酸酯酶(TPP)负责海藻糖生物合成催化反应的最后一步,是植物海藻糖生物合成途径的关键酶。采用 RT-PCR 的方法从木薯叶片中克隆了 1 个 *TPP* 基因,命名为 *MeTPP6*,该基因含有 1 个 1 122 bp 的开放阅读框,编码 373 个氨基酸,具有 TPP 家族保守结构域。系统进化树分析表明,*MeTPP6* 与杞柳和杨树中同源基因的亲缘关系较近,序列相似性高达 89.7% 和 89.0%。启动子分析表明,*MeTPP6* 含有干旱、低温、热胁迫、激素(如 ABA)和光响应等相关元件。荧光定量 PCR 分析表明,*MeTPP6* 在叶片和叶柄中表达量最低;在须根和储藏根中表达量最高,分别为叶片表达量的 4.2 倍和 4.5 倍。而且,*MeTPP6* 基因的表达能被干旱、低温和 ABA 处理显著诱导。这些结果表明,*MeTPP6* 通过依赖于 ABA 的信号通路在转录水平参与木薯干旱和低温胁迫,可作为重要候选基因进一步研究其在木薯非生物逆境中的功能。

关键词:海藻糖-6-磷酸酯酶;*MeTPP6* 基因;干旱;低温;表达分析

中图分类号: S533.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)06-0031-04

木薯(*Manihot esculenta* Crantz)是大戟科热带地区重要的薯类作物,具有高产、高淀粉和耐贫瘠等特性,在现代农业和工业中占有非常重要的地位。木薯是一种耐旱作物,一方面木薯可以通过调节气孔开闭以及新展开叶片的表面积大小来减少蒸腾作用造成的水分损失;另一方面,木薯具有发达的根系,可以从深层(>2 m)土壤中吸收水分^[1]。然而,在较长时间或较为严重的干旱条件下,其块根产量仍会显著下降^[2]。作为典型的热带作物,木薯主要种植在 30°S 至 30°N 之间的热带和亚热带地区。与其抗旱性相比,木薯对低温非常敏感,在 <14 °C 时木薯生长比较缓慢,<10 °C 时木薯将停止生长。更严重的是,极端的低温气候可以造成木薯大幅减产甚至绝收^[3]。因此,提高木薯对干旱和低温等胁迫的抗性,使其在不良生长环境下减少产量损失或是维持原有产量具有重要意义。

海藻糖是天然双糖中最稳定的糖质,在真菌、细菌、藻类、和动植物中广泛存在^[4]。研究表明,在干旱、低温和高盐等非生物胁迫条件下,植物体内海藻糖含量会大量积累^[5],植物生物抗性显著增强。因此,提高海藻糖含量的累积对植物抵御干旱、低温等逆境胁迫非常重要。植物中海藻糖主要经 TPS/TPP 途径合成,即尿苷二磷酸葡萄糖和 6-磷酸葡萄糖分别在海藻糖-6-磷酸合成酶(trehalose-6-phosphate synthase,简称 TPS)、海藻糖-6-磷酸酯酶(trehalose-6-phosphate phosphatase,简称 TPP)的催化作用下生成海藻

糖^[6]。不难看出,TPP 负责海藻糖生物合成催化反应的最后一步,是植物海藻糖生物合成途径的 1 个关键酶。

植物中 TPP 由多基因编码,例如水稻中有 13 个 *TPP* 基因(*OsTPP1-OsTPP13*)^[7],拟南芥中有 10 个 *TPP* 基因(*AtTPPA-AtTPPJ*)^[8-9],它们都含有 *TPP* 基因家族保守结构域。早在 2005 年,Pranamik 等从水稻中克隆了 *OsTPP1* 基因,瞬时表达表明 *OsTPP1* 受到低温、干旱、盐和外界脱落酸(ABA)诱导,而且低温处理后同时提高了 TPP 活性和海藻糖含量^[10]。将 *OsTPP1* 基因在水稻中超表达后,转基因植株对盐和低温的耐受性增强^[7]。进一步功能分析表明,*OsTPP1* 可以激活胁迫相关基因的表达,从而增强转基因植株的抗逆性^[7]。重要的是,Nuccio 等将 *OsTPP1* 基因在玉米中超表达后,多年份多点田间试验表明,转基因植株在正常和干旱条件下均可以增加玉米产量^[11]。由此可见,*OsTPP1* 是 1 个重要的作物抗逆遗传改良的候选基因。另 1 个水稻 *TPP* 基因 *OsTPP7*,最近被证明通过糖代谢调控增强水稻厌氧萌发的耐受性^[12]。在拟南芥中,Vogel 等通过酵母互补试验鉴定并克隆了 2 个拟南芥 *TPP* 基因 *AtTPPA* 和 *AtTPPB*^[13]。研究发现,*AtTPPA* 和 *AtTPPB* 表达后可以互补 *tps2* 突变体的功能,并能够在体内(*in vivo*)和体外(*in vitro*)试验中检测到 TPP 活性^[13]。此外,拟南芥 *TPP* 基因家族成员的表达也受到低温、干旱、盐和 ABA 处理的调控^[9]。

然而,目前这些研究主要集中在模式植物拟南芥和水稻中,在热带作物(如木薯)中尚没有关于 *TPP* 基因克隆及其响应非生物胁迫的研究报道。本研究采用 RT-PCR 的方法从木薯叶片中克隆了 1 个 *TPP* 基因(命名为 *MeTPP6*),分析其保守结构域、系统进化树和启动子元件,并通过 qRT-PCR 分析了其在不同组织中以及在干旱、低温和外界 ABA 处理下的表达水平,旨在为进一步研究 *MeTPP6* 在木薯非生物逆境响

收稿日期:2017-12-13

基金项目:国家自然科学基金(编号:31600198);现代农业产业技术体系建设(编号:CARS-11)。

作者简介:丁泽红(1982—),男,湖南岳阳人,博士,副研究员,主要从事植物分子生物学研究。E-mail:dingzehong@itbb.org.cn。

通信作者:胡 伟,副研究员,主要从事植物分子生物学研究。

E-mail:huwei2010916@126.com。

应中的功能奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究所用材料为木薯主推栽培品种 Ku50, 具有高淀粉、抗逆性好等特点, 由中国热带农业科学院热带生物技术研究提供。植物 RNA 提取试剂盒 (货号: DP437) 购自天根生化科技有限公司, cDNA 反转录试剂盒 (货号: K1622) 购自 Fermentas 公司。本研究中 PCR 引物在生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.2 木薯种植与处理

按照丁泽红等方法^[14]进行木薯种植。将 Ku50 种茎切成 15 cm 左右的茎段, 选择粗细均匀且含有 3~4 个芽眼的茎段种植于塑料盆 (上直径 18.5 cm, 下直径 14.8 cm, 高 18.8 cm), 每盆种植 1 个茎段。将蛭石和营养土按照 1:1 的体积比混合后作为木薯基质。种植约 10 d 后对木薯进行间苗, 每盆只保留 1 棵苗。试验时间为 2013 年 5 月, 试验地点为中国热带农业科学院热带生物技术研究。木薯种植 60 d 后, 分别进行低温、干旱和 ABA 处理。(1) 低温处理: 将生长状况一致的植株放置于光照培养箱, 进行 4℃ 低温胁迫处理。在处理 0、6、24 h 后, 分别收集第 1 张完全展开叶、未展开叶和根的样品, -80℃ 保存备用。(2) 干旱处理: 采用 PEG-6000 进行干旱模拟处理。处理植株浇灌 20% 的 PEG-6000 溶液, 对照植株不施 PEG (采用浇灌自来水代替)。在处理 0、3 和 24 h 后, 分别收集第 1 张完全展开叶、未展开叶、老叶和根的样品, -80℃ 保存备用。(3) ABA 处理: 采用 100 μmol/L ABA 溶液进行浇灌处理, 在处理 0、3、5、7 d 后收集第 1 张完全展开叶的样品, -80℃ 保存备用。

为了研究不同组织中 *MeTPP6* 基因的表达情况, 还收集了正常种植条件下木薯 Ku50 的根 (包括须根和储藏根)、茎、叶和叶柄的样本, 用于 qRT-PCR 分析。

1.3 引物合成及 qRT-PCR

本研究所用引物包括 *MeTPP6* 基因 qRT-PCR 引物 (qMeTPP6-L: 5'-CAACTCCAGGAGCTAAGGTGG-3'; qMeTPP6-R: 5'-CCTAACCCTTGGGCCAGTT-3'), *actin* 基因引物 (qActin-L: 5'-TGATGAGTCTGGTCCATCCA-3'; qActin-R: 5'-CCTCCTACG ACCCAATCTCA-3') 和 *MeTPP6* 基因全长扩增引物 (gMeTPP6-L: 5'-ATGACGAACCAAAATGTGCTAGTAT-3'; gMeTPP6-R: 5'-TTACAGCCTCGGCTGCC

CTCG-3')。采用 SYBR Green I 试剂盒进行 qRT-PCR 分析, 每个样品包括 3 次生物学重复。qRT-PCR 在 Mx 3005P 荧光定量 PCR 仪上进行, 相对表达量按照 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 进行计算^[15]。

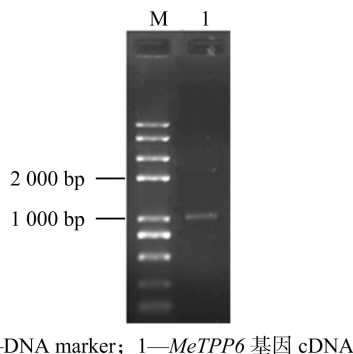
1.4 生物信息学分析

参照丁泽红等方法^[14]进行生物信息学分析, 具体描述如下: 用 BLASTP 搜索 Phytozome 数据库, 获取其他物种中与 *MeTPP6* 同源的蛋白质序列; 用 ExPASy ProtParam 计算蛋白质的等电点和分子量; 用 Plant-mPloc 预测亚细胞定位; 用 NCBI-CDD 数据库预测保守结构域; 用 ClustalX 进行序列比对; 用 MEGA 5.2 构建 Neighbor-Joining 系统进化树; 用 PlantCARE 分析启动子元件; 用 Primer 5.0 软件设计 PCR 引物。

2 结果与分析

2.1 *MeTPP6* 基因克隆

在前期末薯转录组数据中获得了 1 个在干旱胁迫下差异表达基因 (cassava4.1_009931m.g), 之后根据 Phytozome 木薯数据库提供的参考序列, 设计引物进行 PCR 扩增、凝胶电泳检测 (图 1)。经测序后获得 1 条全长为 1 122 bp 的序列, 编码 373 个氨基酸 (图 2), 根据其与水稻 *TPP* 基因的同源性将其命名为 *MeTPP6*。序列比对发现, *MeTPP6* 与参考序列之间仅存在 1 个碱基差异, 可引起氨基酸编码的改变。ProtParam 预测 *MeTPP6* 蛋白的分子式为 $C_{1876}H_{2988}N_{510}O_{544}S_{14}$, 总原子数目为 5 932, 理论等电点 (pI 值) 为 9.31, 分子量为 41 840.3 ku, 不稳定系数为 27.48, 属于稳定蛋白。亚细胞定位预测该蛋白质定位于液泡或叶绿体。NCBI-CDD 保守结构域分析表明, *MeTPP6* 编码的蛋白含有 TPP 基因家族保守结构域 (Trehalose_PPase) (图 2), 属于木薯 *TPP* 基因家族成员。



M—DNA marker; 1—*MeTPP6* 基因 cDNA
图1 *MeTPP6* 基因 cDNA 电泳结果

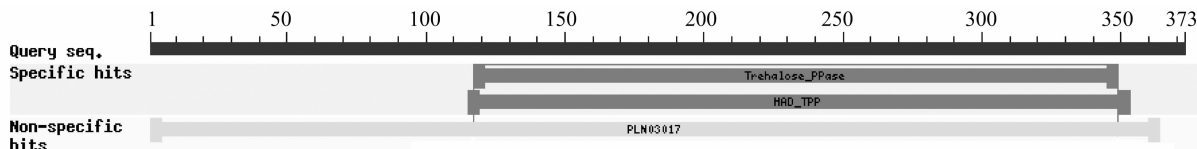


图2 *MeTPP6* 蛋白质结构域分析

2.2 *MeTPP6* 系统进化树分析

通过 BlastP 工具在线搜索 Phytozome 数据库获取与 *MeTPP6* 同源性较高的其他物种中的蛋白质序列, 构建系统进化树。聚类后发现, 这些基因可以分为 3 组 (图 3): 第 I 组包括许多 C4 植物, 如小米、狗尾草、黍羊 *Panicum hallii*、柳枝稷、玉米、高粱和二穗短柄草; 水稻 *TPP* 基因也被聚类在第 I

组, 它与二穗短柄草的同源基因亲缘关系较近, 序列相似度高达 87.8%。木薯 *MeTPP6* 基因被聚类在第 II 组, 它与杞柳 (*Saputria* 0684s0130.1) 和杨树 (*Potri* 005G077200.1) 中同源基因的亲缘关系较近, 序列相似性分别为 89.7% 和 89.0%。拟南芥 *TPP* 基因被聚类在第 III 组, 同时还包含了其他十字花科的物种, 如白菜型油菜、芥菜花、琴叶拟南芥和鼠耳芥等。

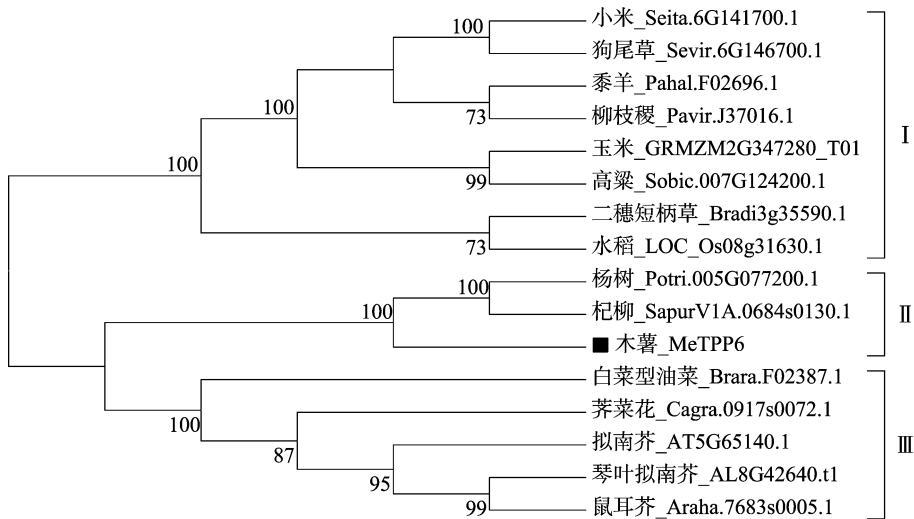


图3 木薯 *MeTPP6* 基因与其他物种 *TPP* 基因系统进化树

2.3 *MeTPP6* 基因启动子分析

启动子对基因表达起重要调控作用,它决定着基因的转录起始和表达程度。本研究选取 *MeTPP6* 起始密码子上游 1 500 bp 的序列进行启动子分析,发现了许多与逆境响应相关的元件,如干旱诱导元件 MBS、低温响应元件 LTR、低温和干旱响应元件 C-repeat/DRE、热胁迫响应元件 HSE 以及防御与胁迫相关元件 TC-rich repeats(表 1)。除此之外,还发现了许多与激素响应相关的元件,如水杨酸响应元件 TCA-element、茉莉酸响应元件 TGACG-motif 和 CGTCA-motif、赤霉素响应元件 P-box 和 GARE-motif、脱落酸(ABA)响应元件 ABRE,以及许多与光响应相关的元件,包括 MRE、ACE、G-Box、Spl 和 box II 等。这些研究结果表明,*MeTPP6* 可能参与木薯干旱、低温、高温、激素和光响应相关的基因表达调控。

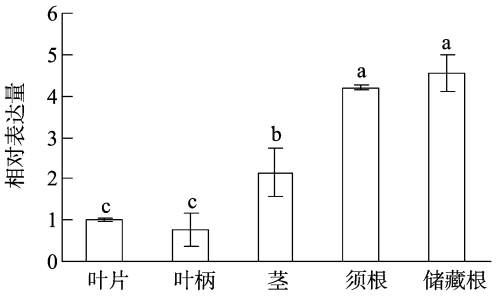
表 1 *MeTPP6* 基因启动子元件分析

序号	元件名称	数目	功能预测
1	MBS	1	干旱诱导
2	LTR	2	低温响应
3	C-repeat/DRE	1	低温和干旱响应
4	HSE	2	热胁迫响应
5	TC-rich repeats	2	防御与胁迫响应
6	MRE	1	光响应
7	ACE	1	光响应
8	G-Box	1	光响应
9	Spl	1	光响应
10	box II	1	光响应
11	TCA-element	1	水杨酸响应
12	TGACG-motif	1	茉莉酸响应
13	CGTCA-motif	1	茉莉酸响应
14	P-box	2	赤霉素响应
15	GARE-motif	1	赤霉素响应
16	ABRE	6	脱落酸响应

2.4 *MeTPP6* 在木薯不同组织中的表达分析

TPS 基因的表达量在植物不同组织器官中存在较大差异。本研究考察了 *MeTPP6* 基因在木薯 Ku50 不同组织中的表达情况,结果表明,*MeTPP6* 在叶片和叶柄中表达量最低;茎中表达量较高,约为叶片中表达量的 2.1 倍;须根和储藏根

中表达量最高,分别为叶片中表达量的 4.2 倍和 4.5 倍(图 4)。这些结果表明,*MeTPP6* 基因主要在木薯的须根和储藏根中起作用。



数据用均值±标准差表示,不同字母表示 Duncan's 多重比较显著 ($P < 0.05$)。图 5 同

图4 *MeTPP6*在木薯不同组织中的表达分析

2.5 *MeTPP6* 在不同胁迫条件下的表达分析

本研究在 *MeTPP6* 基因启动子区域发现了干旱、低温和 ABA 响应相关的元件。为了进一步验证 *MeTPP6* 的功能,本研究分别在干旱、低温和 ABA 处理条件下考察了 *MeTPP6* 基因的表达模式(图 5)。

在 PEG-6000 胁迫条件(模拟干旱)下,在处理 3、24 h 后 *MeTPP6* 在老叶中的表达量呈现持续下降的变化趋势,但表达量无显著差异;在第 1 张完全展开叶中,*MeTPP6* 的表达量呈现先下降后上升的变化趋势,在处理 3、24 h 后分别下降了 19% 和上升了 1.3 倍;在未展开叶,*MeTPP6* 的表达量呈现先不变后上升的变化趋势,在处理 24 h 后上升了 1.8 倍;在根中,*MeTPP6* 的表达量呈现持续上升的变化趋势,在处理 3、24 h 后分别上升了 1.3 倍和 1.5 倍(图 5-A)。

在低温胁迫下,在未展开叶和第 1 张完全展开叶, *MeTPP6* 的表达量在处理 6、24 h 后均呈现持续下降的变化趋势,其表达量分别下降了 56% 和 64%、49% 和 65%;不同的是,根中 *MeTPP6* 的表达量在处理 6、24 h 后呈现持续上升的变化趋势,其表达量分别上升了 3.8 倍和 8.1 倍(图 5-B)。

在 ABA 处理条件下,*MeTPP6* 在叶片中的表达量显著上升了,在处理 3、5、7 d 后分别上升了 1.4 倍、1.7 倍、1.9 倍(图 5-C)。

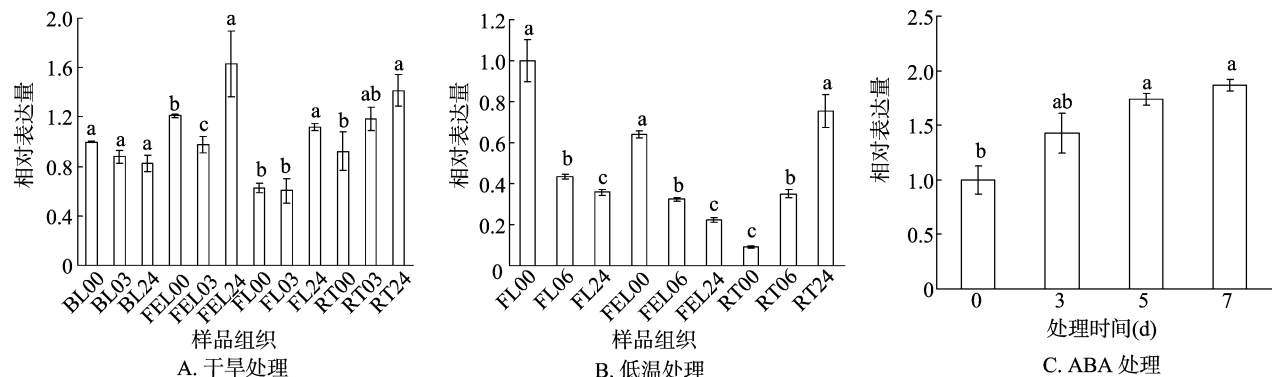


图5 *MeTPP6* 基因在不同胁迫条件下的表达分析

BL—老叶, FEL—第 1 张完全展开叶, FL—未展开叶, RT—根。00、03、06、24 分别代表胁迫处理 0、3、6、24 h

这些结果充分表明, *MeTPP6* 基因在转录水平参与干旱、低温和 ABA 处理响应, 可作为候选基因进一步研究其在木薯抗逆中的功能。

3 讨论与结论

海藻糖是重要的渗透调节物质, 提高植物体内海藻糖含量可以增强植物对干旱、低温等非生物胁迫的抗性^[16]。TPS 和 TPP 是海藻糖生物合成途径中的关键酶。与 TPS 相比, 有关植物 TPP 基因克隆的研究还很少, 且大多数报道都集中在模式植物拟南芥和水稻中。拟南芥中共有 10 个 TPP 基因, 水稻中有 13 个 TPP 基因, 它们都含有 TPP 基因家族保守结构域^[7-8]。研究表明, 提高 TPP 基因的表达量可以增强植物对逆境胁迫的抗性。在拟南芥中超表达 *AtPPD* 基因后, 转基因植株抗盐能力增强^[17]; 在水稻中超表达 *OsTPP1* 基因后, 转基因植株中 *OsTPP1* 表达量上升, 其对低温、盐和干旱胁迫的抗性增强^[7,10]。进一步试验表明, ABA 代谢参与 *OsTPP1* 基因的表达调控^[10]。而且, 在玉米中超表达 *OsTPP1* 基因后发现, 在正常和干旱条件下均可以增加玉米产量^[11]。可见, TPP 是 1 个非常重要的抗逆候选基因, 可用于作物抗逆遗传改良育种。本研究通过 RT-PCR 的方法从木薯叶片中克隆了 1 个 TPP 基因 *MeTPP6*, 序列分析表明 *MeTPP6* 编码 373 个氨基酸, 含有 TPP 基因家族保守结构域, 属于木薯 TPP 基因家族成员。进化树分析表明, 它与杞柳和杨树中 TPP 基因的亲缘关系较近, 序列相似性分别为 89.7% 和 89.0%。

TPP 基因在不同组织中的表达具有较大差异。例如拟南芥 *AtTPPA*、*AtTPPF* 和 *AtTPPG* 主要在花粉表达, *AtTPPB* 主要在胚根、侧根以及根的伸长区表达, 而 *AtTPPE* 主要在子叶和木质部表达^[9], 暗示不同 TPP 成员可能倾向于在不同组织中发挥功能。本研究发现 *MeTPP6* 在叶片和叶柄中表达量最低, 在须根和储藏根中表达量最高, 支持 *MeTPP6* 基因主要在木薯的须根和储藏根中起作用。

TPP 基因表达受到低温、干旱、盐、机械损伤和渗透胁迫等调控, 且不同 TPP 成员对各种处理的响应不一样。例如, 在拟南芥幼苗中, *AtTPPE*、*AtTPPF*、*AtTPPG* 和 *AtTPPJ* 的表达均受到低温、盐和渗透胁迫的诱导, *AtTPPA* 和 *AtTPPH* 的表达仅受到低温胁迫诱导但被盐和渗透胁迫抑制^[9]。在根中, *AtTPPD*、*AtTPPF* 和 *AtTPPI* 的表达均受到低温、盐和渗透胁迫的诱导; *AtTPPA*、*AtTPPE* 和 *AtTPPG* 的表达受到低温和盐胁迫

的诱导, 但对渗透胁迫表现出不同的响应模式; 而 *AtTPPB* 和 *AtTPPH* 的表达则受到低温、盐和渗透胁迫的抑制^[9]。此外, 不同 TPP 成员对激素的响应也不一样。 *AtTPPA* 和 *AtTPPB* 的表达受到 ABA 处理抑制, *AtTPPI* 和 *AtTPPD* 的表达受到 ABA 处理诱导, 而 *AtTPPE*、*AtTPPG* 和 *AtTPPF* 的表达则同时受到 ABA 和 JA 处理诱导^[9]。水稻中 *OsTPP1* 基因的表达也受到低温、干旱、盐和外界 ABA 激素的诱导^[7,10]。本研究在 *MeTPP6* 启动子区域发现了一系列与干旱、低温、防御和胁迫响应相关的元件, 表达分析也进一步证实, *MeTPP6* 基因的表达量受到干旱和低温的调控。植物响应外界非生物胁迫的信号路径主要分为依赖于 ABA 信号通路和不依赖于 ABA 信号通路 2 种^[18]。本研究在 *MeTPP6* 启动子区域多个位置发现了与 ABA 响应相关的元件 ABRE, 且表达分析结果也表明 *MeTPP6* 基因表达是响应 ABA 信号的。因此, 本研究推测 *MeTPP6* 可能是通过依赖于 ABA 的信号通路参与木薯干旱和低温等非生物胁迫调控。这些结果将为进一步研究 *MeTPP6* 基因在木薯抗逆中的功能提供理论参考。

参考文献:

- [1] 张 鹏, 安 冬, 马秋香, 等. 木薯分子育种中若干基本科学问题的思考与研究进展[J]. 中国科学(生命科学), 2013, 43(12): 1082-1089.
- [2] Okogbenin E, Setter T L, Ferguson M, et al. Phenotypic approaches to drought in cassava: review [J]. Frontiers in Physiology, 2013, 4(1): 93.
- [3] 卢赛清, 盘 欢, 马崇熙, 等. 2008 年广西木薯低温冻害情况及应对措施[J]. 广西热带农业, 2009(1): 21-22.
- [4] 张 雯, 王宇斐, 郭延平. 高等植物 6-磷酸海藻糖信号调控研究进展[J]. 植物生理学报, 2016, 52(4): 394-400.
- [5] 张建波, 王莎莎, 郝大海, 等. 干旱和低温胁迫影响烟草幼苗海藻糖代谢的差异比较[J]. 生物技术通报, 2015, 31(10): 111-118.
- [6] 史健志, 徐 燕, 纪德华, 等. 坛紫菜 6-磷酸海藻糖合成酶(TPS)家族基因的克隆及表达特征分析[J]. 水产学报, 2015, 39(4): 485-495.
- [7] Ge L F, Chao D Y, Shi M, et al. Overexpression of the trehalose-6-phosphate phosphatase gene *OsTPP1* confers stress tolerance in rice and results in the activation of stress responsive genes[J]. Planta, 2008, 228(1): 191-201.
- [8] Vandesteene L, Lopez - Galvis L, Vanneste K, et al. Expansive

卢劲晔,顾蓓蓓,马 卉,等. 视黄醇对大肠杆菌诱导的大鼠乳腺上皮细胞 NF- κ B 信号通路的抑制作用[J]. 江苏农业科学,2019,47(6):35-38. doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.06.008

视黄醇对大肠杆菌诱导的大鼠乳腺上皮细胞 NF- κ B 信号通路的抑制作用

卢劲晔¹, 顾蓓蓓^{1,2}, 马 卉², 卢 炜¹, 刘 静¹

(1. 江苏农牧科技职业学院, 江苏泰州 225300; 2. 泰州出入境检验检疫局, 江苏泰州 225300)

摘要:为探讨视黄醇对大肠杆菌诱发的大鼠乳腺上皮细胞炎症反应的影响, 原代培养大鼠乳腺上皮细胞, 试验组预先经视黄醇处理 24 h 后, 对照组和试验组分别经大肠杆菌处理 30 min 和 60 min, 收集细胞和上清液。结果显示, 大肠杆菌诱发能显著提高 TLR4 和 NF- κ B 表达, 进而促进促炎性细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 的释放以及炎性介质 iNOS (诱导型-氧化氮合酶) 的表达。视黄醇处理能抑制 NF- κ B 表达, 进而降低炎性细胞因子和炎性介质的释放和表达, 从而达到保护乳腺上皮细胞的作用。

关键词:视黄醇; 乳腺上皮细胞; 大鼠; NF- κ B 信号通路

中图分类号: S858.237.2⁺6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)06-0035-04

乳腺炎在各种乳用家畜甚至是人类普遍存在, 奶牛乳腺炎更是频繁发生, 全世界约有 1/3 的奶牛患有各种类型的乳腺炎, 是制约奶牛产业发展的主要疾病之一^[1]。目前, 临床上分离的乳腺炎致病菌超过 137 种, 大肠埃希氏杆菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*) 是临床上环境性乳腺炎的代表病原^[2], 存在于奶牛生活的环境中, 如附着在体表尤其是乳头表面、垫料、厩槽、粪便等处, 当乳头管开放时 (挤奶后或乳头

受损等) 进入乳腺繁殖、扩增。奶牛感染大肠杆菌后常引起急性乳腺炎, 并伴随局部和全身症状。从理论上讲加强饲养管理, 搞好泌乳期和产前的环境卫生, 做好挤奶前后的消毒, 可以降低环境性乳腺炎的发病率。但是实践证明, 环境控制并没有明显降低大肠杆菌乳腺炎的发病率。有报道显示, 在管理良好的奶牛场, 高体细胞数 (SCC) 的乳汁中经常能分离到大肠杆菌^[3-4]。近年来大肠杆菌乳腺炎发病率有升高的趋势, 特别是在一些饲养管理水平较高的发达国家, 接触性乳腺炎有所控制, 而大肠杆菌乳腺炎在临床型乳腺炎中的发病率有所增加。

病原菌入侵宿主是一个复杂的、动态的多因子作用过程, 从病原与宿主互作的角度深入研究病原感染后宿主抵御病原感染的机制是控制疾病的关键所在^[5]。先天性免疫系统是

收稿日期: 2017-11-02

基金项目: 江苏省自然科学基金面上研究项目 (编号: BK20151354);

江苏农牧科技职业学院科研课题 (编号: NSF201609); 江苏省现代畜牧与新兽药工程技术中心开放课题 (编号: TGC2XKF1402)。

作者简介: 卢劲晔 (1983—), 男, 江苏扬州人, 博士, 讲师, 主要从事乳腺炎的营养免疫调节机制研究。E-mail: leopardleo@163.com。

evolution of the trehalose-6-phosphate phosphatase gene family in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2012, 160(2): 884-896.

[9] Li P H, Ma S S, Bohnert H J. Coexpression characteristics of trehalose-6-phosphate phosphatase subfamily genes reveal different functions in a network context [J]. Physiologia Plantarum, 2008, 133(3): 544-556.

[10] Pramanik M R, Imai R. Functional identification of a trehalose 6-phosphate phosphatase gene that is involved in transient induction of trehalose biosynthesis during chilling stress in rice [J]. Plant Molecular Biology, 2005, 58(6): 751-762.

[11] Nuccio M L, Wu J, Mowers R, et al. Expression of trehalose-6-phosphate phosphatase in maize ears improves yield in well-watered and drought conditions [J]. Nature Biotechnology, 2015, 33(8): 862.

[12] Kretschmar T, Pelayo M A, Trijatmiko K R, et al. A trehalose-6-phosphate phosphatase enhances anaerobic germination tolerance in rice [J]. Nature Plants, 2015, 1(9): 15124.

[13] Vogel G, Aeschbacher R A, Muller J, et al. Trehalose-6-phosphate phosphatases from *Arabidopsis thaliana*: identification by

functional complementation of the yeast tps2 mutant [J]. Plant Journal, 1998, 13(5): 673-683.

[14] 丁泽红, 付莉莉, 铁韦韦, 等. 木薯 *MeNCED3* 基因克隆、结构变异及其表达分析 [J]. 生物技术通报, 2016, 32(10): 148-153.

[15] Fu L L, Ding Z H, Han B Y, et al. Physiological investigation and transcriptome analysis of polyethylene glycol (PEG)-induced dehydration stress in cassava [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(3): 283.

[16] Garg A K, Kim J K, Owens T G, et al. Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(25): 15898-15903.

[17] Krasensky J, Broyart C, Rabanal F A. The redox-sensitive chloroplast trehalose-6-phosphate phosphatase AtTPPD regulates salt stress tolerance [J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2014, 21(9): 1289-1304.

[18] Shinozaki K, Yamaguchi - Shinozaki K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance [J]. Journal of Experimental Botany, 2007, 58(2): 221-227.