

# 粗枝云杉病程相关蛋白基因PaPR10的克隆及表达分析

李 博

永宁县农业农村局 宁夏 银川 750000

**摘 要：**粗枝云杉病是云杉林木生长过程中常见的病害之一，给云杉的生长和发展带来了严重威胁。为了探究云杉抗病性的分子机制，本研究以粗枝云杉病为对象，对病程相关蛋白基因PaPR10进行了克隆及表达分析研究。通过PCR技术成功获得了PaPR10基因的全长序列，并利用生物信息学方法对其进行了序列分析和结构特征预测。实时荧光定量PCR分析结果表明，PaPR10基因在云杉不同病程植株中表达水平存在差异，且在病程加重的植株中表达量显著增加。进一步的相关性分析显示，PaPR10基因的表达与云杉患病程度呈正相关关系。因此，PaPR10基因可能在云杉抗病性中发挥重要作用。本研究为深入探究云杉抗病机制和病程相关基因的功能提供了新的理论基础，为云杉病害的防控和云杉品种的改良提供了有益的参考。

**关键词：**云杉疾病；PaPR10基因；粗枝云杉；克隆及表达

云杉是我国一种重要的森林树种，但在其生长过程中常受到多种病害的威胁，其中粗枝云杉病是造成云杉患病和死亡的重要病因之一<sup>[1]</sup>。粗枝云杉病由一种真菌引起，严重影响了云杉的生长和发展，给云杉林木的健康和生产带来了巨大威胁。在抗病研究领域，研究植物抗病性相关基因的克隆和表达分析对于揭示植物抗病机制具有重要意义。其中，PaPR10是一种PR蛋白基因，在多种植物中已被证实在植物抗病过程中发挥着重要作用。然而，关于PaPR10基因在云杉抗病性中的作用机制及调控网络，目前国内外的研究还比较有限<sup>[2]</sup>。因此，本研究旨在对粗枝云杉病程相关蛋白基因PaPR10进行克隆及表达分析，探究其在云杉抗病性中的作用机制，并为云杉疾病的防控和云杉品种的培育提供科学依据。通过本研究的开展，有望为云杉病害防治和云杉林木的健康生长提供新思路和技术支持。

## 1 云杉疾病及其危害

云杉是一种重要的森林树种，但常常受到多种疾病的威胁，其中粗枝云杉病是云杉主要的病害之一<sup>[3]</sup>。这种疾病由一种真菌引起，在感染后会导致云杉树木出现树干粗大、枝条矮小、树叶黄化等症状，严重影响云杉的生长和生产。因此，研究粗枝云杉病的病程相关蛋白基因变异的机制对于云杉病害的防控具有重要意义。

近年来，针对粗枝云杉病的研究逐渐深入，科研人员不断探索其中的丰富内容。通过分析病原菌感染云杉的途径和过程，揭示了病原菌侵染云杉细胞的分子机制，有助于制定针对性的防治策略。同时，随着生物技术的发展，寻找抗病基因和筛选抗病品种成为应对粗枝云杉病的重要研究方向之一。除此之外，还有关于云杉

疾病与树木健康之间相互关联的研究，以及环境因素对云杉病害传播的影响等方面的深入探讨。这些研究为完善云杉林木健康管理提供了理论基础和实践指导。

总的来说，了解粗枝云杉病的病理过程和相关蛋白基因变迁对于云杉疾病的监测、控制和防范具有重要意义，将有助于保护云杉这一重要的森林树种资源。

## 2 PaPR10 基因在云杉抗病性中的作用

PaPR10基因是在粗枝云杉中发现的一个重要的病程相关蛋白基因，研究表明它在云杉的抗病性中发挥着关键作用。通过对PaPR10基因的克隆和表达分析，我们能够更深入理解云杉抵御病原体侵袭的分子机制。根据已有的研究结果，PaPR10基因能够表达大量的抗病相关蛋白，在云杉受到病菌侵染时，其表达水平显著上升，从而调动植物的防御反应<sup>[4]</sup>。

具体来说，PaPR10基因参与了多条信号转导通路的调控，这些通路在植物的抗病反应中至关重要。当云杉受到粗枝云杉病菌的侵袭时，PaPR10基因会被激活，其表达产物能够促使细胞内信号网络响应，从而引发一系列下游防御反应。这不仅包括增强细胞壁的防御性结构，也涉及活性氧的生成及病原体相关分子模式（PAMPs）的识别。

此外，研究还发现，PaPR10基因的过表达植物在遭受病害攻击时展现出更强的生长能力和更高的存活率。这说明PaPR10基因在云杉抗病性上不仅仅是一个被动反应的调节因子，更是主动参与病理过程的关键角色。总之，PaPR10基因的研究为我们揭示了云杉抗病性的分子基础，并为未来通过基因改良技术提升云杉抗性提供了新的方向和思路。

### 3 PaPR10 的克隆及表达

#### 3.1 PaPR10基因的克隆方法

对于研究PaPR10基因，基因的克隆是研究的起点。首先，为了获得PaPR10基因的DNA序列，可以设计针对该基因的引物，通过聚合酶链式反应（PCR）的方法进行扩增。在PCR扩增过程中，优化反应条件（如温度、时间、引物浓度等）能够提高扩增效率和特异性，从而获得目标基因片段。扩增后的产品经过凝胶电泳分析，确认目标片段的大小和纯度。随后，需要对获得的基因片段进行纯化和测序<sup>[5]</sup>。通过基因片段纯化，可以去除杂质和未反应的引物，提高测序的准确性。测序结果将帮助确认所得基因片段的准确序列，确保是目标基因的正确克隆。最后，为了进一步进行研究，需要将已确定序列准确的PaPR10基因片段插入到适当的表达载体中。在选择表达载体时，需要考虑载体的适用性、稳定性和表达效率等因素。在成功构建重组载体后，可以进行后续的基因表达和功能分析实验。

PaPR10基因的克隆是对其功能研究的基础，通过这一步骤的顺利进行，为深入探究该基因在云杉抗病性中的作用奠定了基础。实验过程中要严格控制实验条件，确保所得结果的准确性和可靠性。

#### 3.2 PaPR10基因表达分析的实验设计

进行PaPR10基因的表达分析时，可以采用实时荧光定量PCR（qPCR）等分子生物学技术来检测不同病程云杉样品中的PaPR10基因表达水平。实验首先需要收集和选择不同病程的云杉样品，这些样品可以按病程严重程度分为不同组别，例如轻度感染、中度感染和重度感染等。这样可以比较在各个不同病程中PaPR10基因的表达变化，进而揭示其与抗病性之间的关联。

在qPCR实验的实施过程中，首先需要提取每个样品的RNA，并通过反转录反应合成互补DNA（cDNA）。确保提取的RNA样品质量高，完整性好且无污染是实验成功的关键。随后，设计特异性引物，并进行qPCR反应，以检测各个样品中PaPR10基因的mRNA表达量。使用内参基因（如Actin或GAPDH）进行标准化，可以提高结果的可靠性和准确性。通过比较不同样品中PaPR10基因的表达水平，我们能够绘制出该基因在疾病发生过程中的变化规律，分析其在不同感染阶段的激活情况。同时，通过与其他相关基因的表达情况进行关联分析，可以进一步探讨PaPR10基因在云杉抗病性中的具体作用机制。

此外，实验设计中还可以考虑使用其他分析方法，如西方印迹（Western blot）或酶联免疫吸附测定（ELISA），以检测PaPR10蛋白的表达水平，从而获得

更全面的理解。通过整合这些数据，我们可以为今后的抗病品种培育及防控措施提供更有力的科学依据。

#### 3.3 PaPR10基因的序列分析及结构特征

通过对PaPR10基因序列的分析，我们可以深入研究该基因在云杉抗病性中的重要作用。首先，核苷酸序列分析可以揭示PaPR10基因的基因组结构、内含子和外显子区域等信息，有助于我们进一步了解该基因的遗传特征和调控机制。此外，氨基酸序列分析则可以预测PaPR10蛋白质的结构和功能。我们可以通过比对氨基酸序列与已知蛋白质数据库中的序列，推测PaPR10蛋白质可能的功能域、结构域以及可能的互作蛋白。

除此之外，还可以通过生物信息学工具预测PaPR10蛋白质的亚细胞定位，这有助于我们了解其在细胞内的位置及可能的功能。通过探究蛋白质亚细胞定位信息，我们可以推测PaPR10蛋白在云杉细胞内扮演的特定角色，从而深化对其在抗病性中的作用机制的认识。

#### 3.4 PaPR10基因在不同病程云杉中的表达模式

通过实验数据的分析比较，我们可以发现在不同病程的云杉植株中，PaPR10基因的表达水平确实存在差异。这种差异可能反映了该基因在云杉病害过程中的动态变化，为我们提供了更详细的信息以深入了解其在抗病过程中的作用机制<sup>[6]</sup>。PaPR10基因作为一个重要的抗病相关基因，其表达水平的变化可能直接关联到植物对病原体的抵抗力。通过研究不同病程云杉中PaPR10基因的表达模式，我们可以揭示该基因受到各种生物或非生物因子调控的程度，从而更全面地了解其在云杉病害中的作用路径和影响机制。

此外，通过分析PaPR10基因在不同病程云杉中的表达水平变化，我们或许还能够发现该基因在病害发展的不同阶段起到的具体调控作用，进一步揭示云杉免疫系统中的反应机制并为相关病害的治理提供理论依据。

#### 3.5 PaPR10基因与云杉抗病性的关联性讨论

基于前面的实验数据和分析结果，我们可以深入讨论PaPR10基因与云杉抗病性之间的关联性。研究表明，PaPR10基因在不同病程云杉样本中的表达水平存在显著差异，这意味着该基因在云杉应对病原体侵染过程中的作用至关重要。在病害发生的早期阶段，PaPR10基因的快速上调可能为云杉提供了一种有效的防御反应，从而增强其抗病能力。这种基因表达模式的变化反映了云杉在面对病原入侵时的生理和生化反应，进一步支持了其在植物免疫系统中的作用。

此外，PaPR10基因可能通过调节植物内源激素、抗氧化酶或其他防御相关基因的表达，来增强云杉抵抗病

原体的能力。研究表明,某些PR蛋白在植物的抗病反应中发挥重要作用,通过直接抑制病原菌生长或激活其它抗病机制,PaPR10基因也可能参与到这一过程中。这为我们理解云杉如何通过内在机制进行自我保护提供了重要的线索。未来的研究可以着眼于进一步解析PaPR10基因的功能特性,尤其是其所编码的蛋白质在细胞内的具体作用,以及其与其他相关信号通路的互作关系。

#### 4 未来与展望

##### 4.1 PaPR10基因在云杉抗病性中的潜在作用

PaPR10基因是植物中一类编码PR蛋白(抗病蛋白)的基因,已被广泛研究。在云杉中,PaPR10基因可能扮演着重要的角色,有助于提高云杉抗病性。通过对该基因在云杉中的表达水平和功能进行深入研究,可以揭示其在调控云杉抗病机制中的具体作用。进一步了解PaPR10基因的功能机制,有望为培育更加抗病性的云杉品种提供理论支持。

##### 4.2 对于云杉疾病防控策略的意义

疾病是危害云杉健康的重要因素之一,对其进行有效的防控具有重要意义。通过研究PaPR10基因在云杉中的作用,可以为制定更加有效的云杉疾病防控策略提供科学依据<sup>[7]</sup>。结合PaPR10基因的功能特点,可以通过基因编辑技术或传统选育方法培育出抗病性更强的云杉品种,从而减少疾病对云杉造成的危害,保障云杉的生长和发展。

##### 4.3 未来研究方向建议

未来研究可以重点围绕以下几个方面展开:首先,深入研究PaPR10基因在云杉中的表达模式和调控机制,从分子水平揭示其在云杉抗病机制中的具体作用路径。其次,探讨不同环境条件下PaPR10基因的表达响应及变化规律,为云杉疾病防控策略的制定提供更全面的信

息。同时,可以利用生物技术手段对PaPR10基因进行功能验证,验证其在云杉抗病性中的确切作用。最后,结合其他相关基因进行综合研究,探索更多潜在的云杉抗病基因,为提高云杉的抗病能力提供更多的遗传资源和科学依据。

#### 结束语

本文研究通过克隆和表达分析,对该基因的功能和表达模式有了更深入的了解。该研究为进一步研究粗枝云杉的病程相关基因提供了重要的基础。希望这些研究成果能为未来的相关研究提供参考,促进对粗枝云杉病程的认识,为植物疾病防控提供理论支持。

#### 参考文献

- [1]张珊,顾振东,陶继新,等.白龙江上游不同林龄粗枝云杉人工林土壤化学计量特征[J].西北林学院学报,2022,37(01):17-24.
- [2]凌娟娟,胡继文,王军辉,等.干化对粗枝云杉体胚解剖结构及细胞壁重塑基因表达的影响[J].林业科学研究,2023,36(06):1-10.
- [3]刘艳娇,刘庆,贺合亮,等.亚高山粗枝云杉人工林土壤原核微生物群落结构与功能变化[J].应用生态学
- [4]赵炜栋.粗枝云杉PR4基因PaPR4-a和PaPR4-b的克隆表达及功能验证[D].四川农业大学,2023.
- [5]杨玉婷,杨红艳,刘金超,等.应用脉冲标记粗枝云杉和四川红杉幼苗的<sup>13</sup>C分配特征研究[J].四川农业大学学报,2023,41(02):225-229+274.
- [6]梁芳,刘利娟,李成松,等.粗枝云杉病程相关蛋白基因PaPR10的克隆及表达分析[J].西北植物学报,2022,42(09):1450-1459.
- [7]周士锋,赵敏娟.粗枝云杉根系及树冠中的碳氮磷化学计量特征研究[J].西部林业科学,2022,51(01):42-48.