

# 西瓜 *PDC* 基因克隆及过表达载体构建

杨逸, 杜双江, 周美寒, 马婷婷, 王学征

(东北农业大学园艺园林学院 哈尔滨 150000)

**摘要:** 丙酮酸脱羧酶(pyruvate decarboxylase, PDC)是植物糖酵解途径中的关键酶。以西瓜果肉 cDNA 为模板, 使用特异性引物克隆 *CIPDC* 基因, 并对其进行生物信息学分析。结果表明, 西瓜 *CIPDC* 基因 CDS 序列长度为 1818 bp, 共编码 605 个氨基酸, 蛋白质相对分子质量 65.37 kDa, 理论等电点 5.88, 属疏水性非跨膜蛋白。系统进化树表明, *CIPDC* 基因与甜瓜、冬瓜、黄瓜等葫芦科作物 *PDC* 基因同源性较高。qRT-PCR 分析表明, *CIPDC* 基因在果肉中高表达, 且表达量随果实发育进程呈上升趋势。使用两种限制性内切酶设计同源重组特异性引物, 转入质粒中, 成功构建 *CIPDC* 过表达载体。综上, *CIPDC* 基因可能在西瓜果实糖代谢中发挥重要作用。本研究结果为后续 *CIPDC* 基因生物学功能解析奠定了基础。

**关键词:** 西瓜; *PDC* 基因克隆; 表达特性; 载体构建

中图分类号: S651

文献标志码: A

文章编号: 1673-2871(2026)07-032-08

## Cloning and overexpression vector constructing of *PDC* gene in water-melon

Yang Yi, Du Shuangjiang, Zhou Meihan, Ma Tingting, Wang Xuezheng

(College of Horticulture and Landscape Architecture, Northeast Agricultural University, Harbin 150000, Heilongjiang, China)

**Abstract:** Pyruvate decarboxylase (PDC) is a key enzyme in the glycolytic. In this study, the *CIPDC* gene was cloned from the cDNA of watermelon pulp using specific primers. Bioinformatics analyses illustrated that the CDS of *CIPDC* gene was 1818 bp, encoding 605 amino acids. The protein had a molecular mass of 65.37 kDa and a theoretical isoelectric point of 5.88, and was classified as a hydrophobicity non-transmembrane protein. Phylogenetic analysis indicated that the *CIPDC* gene had a high homology with the *PDC* gene of cucurbit crops such as melon, wax gourd, and cucumber. qRT-PCR analysis demonstrated that the *CIPDC* gene had the highest expression level in pulp and increased as fruit ripened. Two restriction enzymes were used to design specific primers for homologous recombination, then inserted the gene into the plasmid to successfully construct the *CIPDC*-overexpression vector. In conclusion, the above studies suggest that *CIPDC* may play an important role in the fruit glycolytic process of watermelon. The results lay the foundation for the subsequent analysis of its specific biological functions.

**Key words:** Watermelon; *PDC* gene cloning; Expression feature; Vector construction

西瓜是葫芦科西瓜属的一年生蔓生藤本植物, 我国是西瓜消费和生产的世界第一大国<sup>[1]</sup>。西瓜药膳皆可<sup>[2]</sup>, 其含有丰富的多糖、矿物质、维生素等营养成分<sup>[3]</sup>, 具有调节血糖<sup>[4]</sup>、消炎降压<sup>[5]</sup>的药用价值, 口感清爽甜脆, 在市场上受到众多消费者的喜爱。

糖代谢是植物代谢的重要途径之一, 广泛存在于各种植物中, 是植物体脂类代谢、核酸代谢和蛋白质代谢等代谢途径的连接枢纽, 也可为植物提供足够的能量和构建材料来维持生长发育等需要<sup>[6]</sup>。

丙酮酸脱羧酶(pyruvate decarboxylase, PDC)是一种裂合酶, 其与乙醇脱氢酶在丙酮酸转化为乙醇的代谢途径中存在协同作用, 丙酮酸脱羧酶催化功能依赖于焦磷酸硫胺素(thiamine pyrophosphate, ThPP)和镁离子, 催化丙酮酸发生不可逆脱羧并生成乙醛, 释放二氧化碳<sup>[7]</sup>, 丙酮酸脱羧酶是该反应的关键酶。现有研究表明, 相比于其他糖代谢关键酶, 如尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶<sup>[8]</sup>、己糖激酶<sup>[9]</sup>和蔗糖合成酶<sup>[10]</sup>等, 有关丙酮酸脱羧酶的研究相对

收稿日期: 2025-12-02; 修回日期: 2026-04-15

基金项目: 国家西甜瓜产业技术体系(CARS-025)

作者简介: 杨逸, 女, 在读本科生, 主要研究方向为西瓜分子育种。E-mail: 2359360463@qq.com

通信作者: 王学征, 女, 教授, 主要研究方向为西瓜分子育种。E-mail: wangxuezheng@neau.edu.cn

较少。张计育等<sup>[11]</sup>过量表达金魁猕猴桃丙酮酸脱羧酶基因 *AdPDC2*,以期增强拟南芥的耐涝性与耐热性;史仁玖等<sup>[12]</sup>对白花丹参 *SmPDC* 基因进行克隆,探究了该基因的功能并揭示其与植物耐缺氧代谢途径的相关性;Cui 等<sup>[13]</sup>通过分析白颖藁草丙酮酸脱羧酶基因 *CrPDC1* 的组织特异性表达,统计盐处理下野生型及 *CrPDC1* 过表达的拟南芥植株发芽率,探索 *CrPDC1* 基因提高草坪草和其他植物应激复原力的潜在作用。然而,在西瓜中关于该基因的相关报道较少。

基因过表达的技术核心在于通过将目的基因的 CDS 区克隆至特定载体,进而利用载体上的调控组件来驱动该基因的高水平表达。这一过程在人为设定的条件下能够实现转录本和蛋白质的大量合成,以达到功能研究的目的。该技术现已广泛运用于基因的功能研究,周淑婷等<sup>[14]</sup>通过过表达 *PpMYB113* 揭示了其在桃花青苷积累中起正向促进作用,刘彤彤等<sup>[15]</sup>通过对水稻 *ZmSTART1* 的过表达,发现 *ZmSTART1* 在维管束建成过程中具有重要作用,陈天祥等<sup>[16]</sup>将水稻 *OsAMT1;1* 基因过表达以提升氮肥减施下氮素的利用效率,Tuerxun 等<sup>[17]</sup>构建载体将棉花中的 *GhCAD6* 基因过表达使植物木质素含量增加,改善了棉纤维的品质,Xiang 等<sup>[18]</sup>过表达蓝草中的 *PpbZIP23* 来激活抗氧化防御系统和改变多种代谢途径,以调节蓝草的耐旱性。笔者选用西瓜自交系 W-812 果肉为试验材料,成功克隆了 *CIPDC* 基因,利用生物信息学工具,系统分析和预测该基因编码蛋白的理化性质、信号肽、启动子顺式作用元件等关键特征,采用 qRT-PCR 技术定量检测该基因在西瓜自交系 W-1338 各个器官中的表达水平,结合转录组数据进一步分析该基因在果实发育过程中的表达量变化趋势,同时构建了 *CIPDC* 基因的过表达载体,以期验证该基因的功能奠定基础,为西瓜农艺性状的改良提供重要的理论依据和技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验于 2024 年 12 月至 2025 年 12 月在东北农业大学进行。供试材料:西瓜自交系 W-812,栽培西瓜亚种,果肉红色,中心可溶性固形物含量(w,后同)10.2%,果实发育期 35 d,用于基因克隆;西瓜自交系 W-1338,栽培西瓜亚种,果肉红色,中心可溶性固形物含量 12.2%,果实发育期 45 d,用于基因

表达量分析。两份自交系材料均由东北农业大学西甜瓜课题组提供。

### 1.2 CIPDC 基因克隆

使用 SnapGene 6.11 软件设计 *CIPDC* 基因序列的特异性引物, *CIPDC*-F: ATGGACGC-CAAAATCGGATC; *CIPDC*-R: CTACTGAGGATT-GGGAGGGC。将 W-812 西瓜果肉材料于冰箱中取出,使用植物总 RNA 提取试剂盒提取西瓜果肉总 RNA,以总 RNA 为模板,使用 TaKaRa 公司 RNA PCR Kit (AMV)试剂盒将其反转录为 cDNA。使用特异性引物 *CIPDC*-F/*CIPDC*-R 并以 cDNA 为模版进行 PCR 扩增,PCR 反应体系(50  $\mu$ L): TOYOBO KOD OnePCR Master Mix 酶 25  $\mu$ L,模版 cDNA 4  $\mu$ L,特异性引物 *CIPDC*-F/R 各 1.5  $\mu$ L,加入 ddH<sub>2</sub>O 补齐至 50  $\mu$ L。PCR 扩增程序如下: 98  $^{\circ}$ C 1 min,继以 35 个循环的 98  $^{\circ}$ C 10 s, 59  $^{\circ}$ C 5 s, 68  $^{\circ}$ C 5 s;最后 72  $^{\circ}$ C 1 min 彻底延伸。将所得目的基因 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳,在紫外线照明下切割最亮条带进行提纯回收,连接克隆载体与纯化的目的基因片段构建重组质粒,热激法转入大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态细胞,使用添加卡那霉素的 LB 固体培养基涂布转化后的菌液,放入 37  $^{\circ}$ C 恒温培养箱中平板倒置培养 16 h,挑取单菌落并扩增,将得到的菌液样本进行测序验证。

### 1.3 CIPDC 蛋白生物信息学分析

*CIPDC* 蛋白的理化性质使用在线网站 Ex-pasy- ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) 进行分析; *CIPDC* 蛋白的跨膜结构通过 TMHMM2.0Server (<https://services.healthtech.dtu.dk/services/TMHMM-2.0>) 进行预测;通过在线网站 SignalP4.1Server 与 NetPhos- 3.1 (<https://services.healthtech.dtu.dk>) 预测 *CIPDC* 蛋白信号肽存在情况及该蛋白磷酸化位点; *CIPDC* 蛋白的三级结构使用在线网站 Swiss- Model (<https://swissmodel.expasy.org/interactive>) 预测, *CIPDC* 蛋白的保守结构域分析与同源序列比对使用在线网站 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>);将序列比对结果使用在线软件 MEGA11 构建系统进化树。 *CIPDC* 基因上游启动子顺式作用元件使用在线网站 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 进行分析,利用在线软件 Graph-Pad 和 TBtools 绘制 *CIPDC* 基因表达量柱形图。

### 1.4 CIPDC 基因时空表达模式分析

根据 *CIPDC* 基因的 CDS 序列设计 *CIPDC* 基

因特异性的 qRT-PCR 引物，上游引物：ATC-CAAAATTCCGTCCCCGC，下游引物：CGATGT-TATTGAGCGCAGGC，采集自交系 W-1338 的果皮、果肉、叶片、卷须、茎以及授粉后 14、35 和 49 d 的果肉样品，每份样品 3 个重复，提取 RNA 反转录为 cDNA，使用 qRT-PCR 技术对 *CIPDC* 基因进行表达分析。qRT-PCR 反应体系 (20  $\mu$ L)：qPCR SuperMix 10  $\mu$ L，模版 cDNA 2  $\mu$ L，上下游引物各 1.5  $\mu$ L，加入 ddH<sub>2</sub>O 补齐至 20  $\mu$ L。qRT-PCR 反应程序如下：95  $^{\circ}$ C 1 min，继以 40 个循环的 95  $^{\circ}$ C 15 s，58  $^{\circ}$ C 20 s，72  $^{\circ}$ C 12 s。*CIPDC* 基因相对表达量计算采用 2<sup>- $\Delta\Delta$ CT</sup> 法。

1.5 *CIPDC* 基因过表达载体构建

使用在线网站 (<https://crm.vazyme.com/>)，将 *CIPDC* 基因的 CDS 序列与 *PBI121* 载体序列和筛选好的限制性内切酶 *Xba*I 与 *Bam*HI 序列导入，生成特异性引物 TYCIPDC-F：gagaacacgggggactctagaATGGACGCCAAAATCGGAT，TYCIPDC-R：ggactgaccacccggggatccCTACTGAG-GATTGGGAGGGCG。利用特异性引物 TYCIPDC-F/R 扩增 *CIPDC* 基因，凝胶回收，使用限制性内切核酸酶 *Xba*I 与 *Bam*HI 把 *PBI121* 质粒载体进行切割，*PBI121* 空质粒载体酶切反应体系 50  $\mu$ L：10 $\times$  T Buffer 2  $\mu$ L，*PBI121* 空质粒，*Xba*I 和 *Bam*HI 各 1  $\mu$ L，加 ddH<sub>2</sub>O 补齐至 50  $\mu$ L。将双酶切得到的带有黏性末端的目的基因与切开的空载体使用连接

酶连接，使用热激法将连接 *CIPDC* 基因的 *PBI121* 质粒转入大肠杆菌 DH5 $\alpha$  感受态中，将摇菌培养后获得的菌液涂布在含有卡那霉素的 LB 培养基中，平板倒置于 37  $^{\circ}$ C 培养箱中培养 16 h，挑取单菌落，放于液体培养基内培养，将所得菌液进行测序，验证连接产物是否转入大肠杆菌。

2 结果与分析

2.1 *CIPDC* 基因克隆

序列测定证明，该基因 CDS 序列全长 1818 bp，共编码 605 个氨基酸。使用 NCBI 在线网站 BLAST 工具分析该基因编码的氨基酸序列的同源性，显示其与冬瓜 *PDC* 基因编码的氨基酸 (XP\_038906211.1) 存在 98.18% 的同源性，据此命名该基因为 *CIPDC*。

2.2 *CIPDC* 基因生物信息学分析

2.2.1 *CIPDC* 蛋白理化性质分析 采用 Ex-pasy-ProtParam 在线网站对 *CIPDC* 基因编码的蛋白进行理化分析，结果显示，*CIPDC* 蛋白共包含 605 个氨基酸，蛋白分子式为 C<sub>2908</sub>H<sub>4550</sub>N<sub>786</sub>O<sub>878</sub>S<sub>29</sub>，相对分子质量为 65.37 kDa，理论等电点为 5.88，不稳定系数为 33.98 (<40)，亲水系数为 0.003，为稳定疏水蛋白。利用 NCBI-CDS 对 *CIPDC* 蛋白进行保守结构域预测，鉴定出该蛋白存在 1 个归属于 PLN02573 家族的保守结构域 (图 1)。

2.2.2 *CIPDC* 蛋白跨膜结构分析 *CIPDC* 蛋白跨

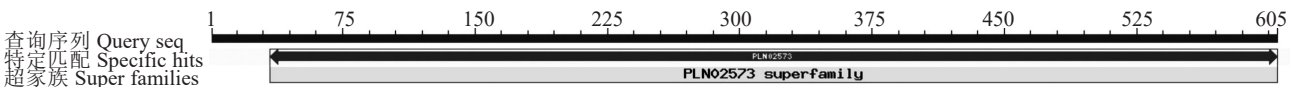


图 1 *CIPDC* 蛋白保守结构域分析

Fig. 1 Analysis of conserved domains of *CIPDC* protein

膜结构域使用 TMHMM2.0Server 在线网站进行预测，由图 2 可知，*CIPDC* 蛋白主要位于膜外侧，无跨膜结构域。该蛋白信号肽使用在线网站 SignalP4.1Serve

预测，结果显示，西瓜 *CIPDC* 蛋白信号肽存在的概率仅为 0.57%，预测其为非分泌蛋白 (图 3)。

2.2.3 *CIPDC* 蛋白磷酸化位点分析 利用 NetPhos

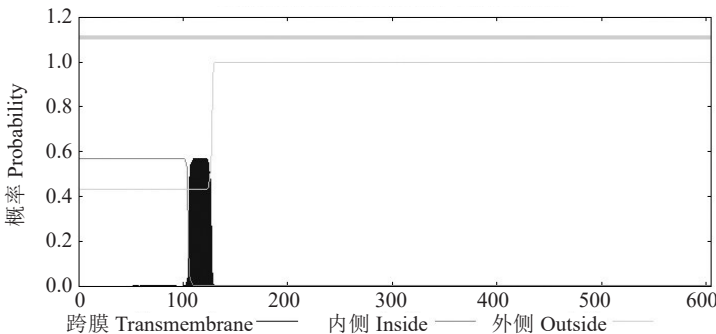


图 2 *CIPDC* 蛋白跨膜结构域预测

Fig. 2 Predicted transmembrane domain of *CIPDC* protein

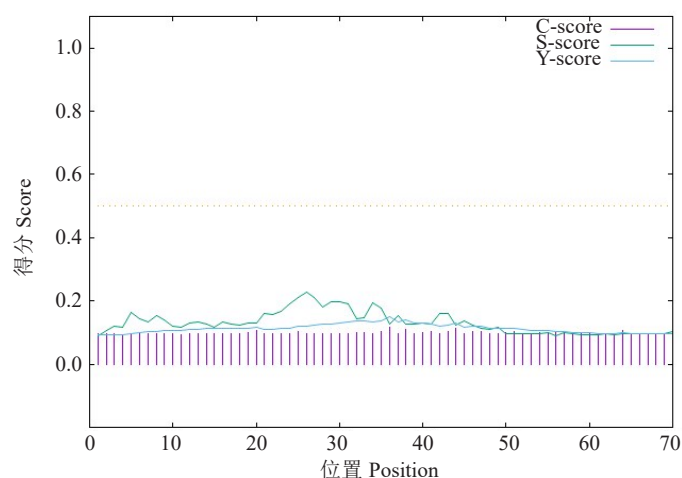


图3 CIPDC 蛋白信号肽预测

Fig. 3 CIPDC protein signal peptide prediction

在线网站对 *CIPDC* 基因编码蛋白进行磷酸化位点分析,结果表明,该基因编码蛋白含有 20 个丝氨酸位点,18 个苏氨酸位点,8 个酪氨酸位点,共计 46 个潜在磷酸化位点(图4)。

2.2.4 *CIPDC* 启动子顺式作用元件分析 为鉴定 *CIPDC* 基因启动子区的潜在调控元件,使用 Plant-CARE 在线工具对其转录起始位点上游 2000 bp 的序列进行分析,将 CATT-box 上游启动子成分和

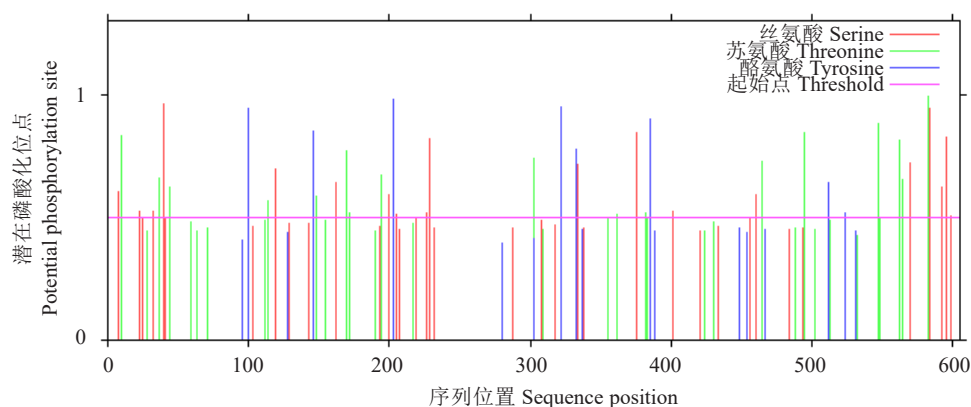


图4 西瓜 CIPDC 蛋白磷酸化位点预测

Fig. 4 Predicted phosphorylation sites of the CIPDC protein

TATA-box 的核心启动子区在结果中去除,该基因启动子序列还包含 3 个厌氧诱导相关的必需元件,4 个茉莉酸甲酯响应相关的顺式元件(图5),推测该基因在各类生物及非生物逆境胁迫下具有调控作用。

2.2.5 *CIPDC* 蛋白多序列比对及系统进化分析 使用 NCBI 在线网站的 BLAST 工具将西瓜 *CIPDC* 基因编码的氨基酸序列进行比对,结果表明,该基因与冬瓜、甜瓜、黄瓜存在较高同源性,分别为 98.18%、97.69%、97.02%。使用 MEGA-X 软件基于比对所得的 6 种植物 PDC 蛋白序列,采取邻接法构建系统进化树。进化分析显示,*CIPDC* 与葫芦科作物的 PDC 蛋白存在更近的亲缘关系(图6),表明它

们具有共同的进化起源。

### 2.3 *CIPDC* 基因时空表达模式分析

为探究西瓜 *CIPDC* 基因在西瓜果实发育中的作用,采用 qRT-PCR 分析其在西瓜各器官中的相对表达量。结果表明,*CIPDC* 基因在 W-1338 果肉中的表达量最高,在果皮和茎中的表达量居中,在叶片和卷须中表达量较低(图7)。结合果实发育时期的转录组数据绘制表达量柱形图,结果表明,西瓜 *CIPDC* 基因随果实发育进程表达量呈上升趋势(图8),推测该基因表达对西瓜果肉发育与糖分积累起关键作用。

### 2.4 *CIPDC* 基因过表达载体构建

胶回收带有 *Xba* I 和 *Bam* HI 双酶切黏性末端

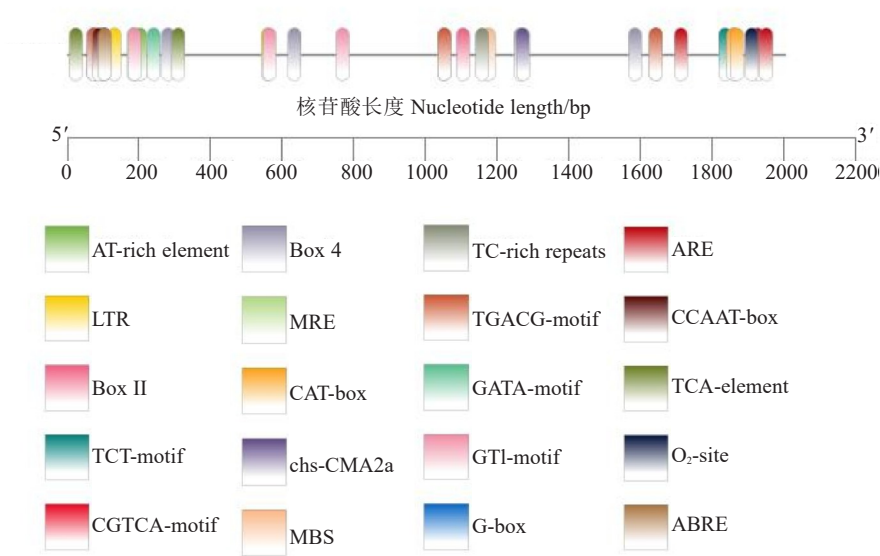


图 5 西瓜 *CIPDC* 顺式作用元件分析  
Fig. 5 Analysis of the cis-acting element in of *CIPDC* gene in watermelon

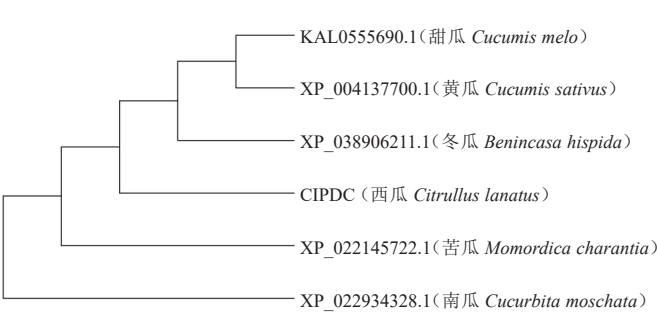


图 6 PDC 蛋白的系统进化树分析  
Fig. 6 Phylogenetic tree analysis of PDC proteins

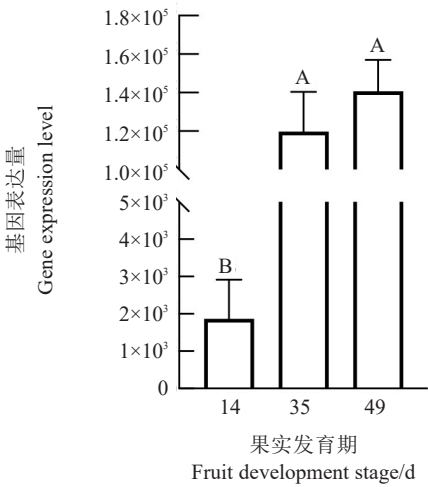
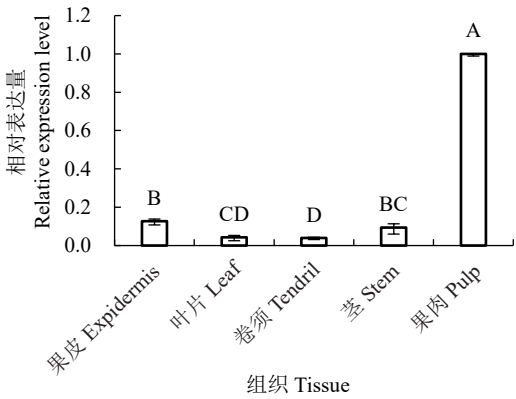


图 8 *CIPDC* 基因在西瓜果实发育时期的表达趋势  
Fig. 8 The expression trend of the *CIPDC* gene during the fruit development stage in watermelon



注:不同大写字母表示在  $P<0.01$  水平下呈极显著差异。下同。  
Note: Different capital letters indicate extremely significant difference at  $P<0.01$ . The same below.

图 7 *CIPDC* 基因在西瓜不同组织部位的表达水平分析  
Fig. 7 Analysis of *CIPDC* gene expression levels of different tissues in watermelon

的目的基因片段,双酶切 *PBI121* 空载体,连接酶连接目的基因与切开的空载体,使 *CIPDC* 插入到 *PBI121* 组成型表达启动子 35S 之后,构建过表达载体 *PBI121-CIPDC*。将构建好的重组质粒转入大肠杆菌 *DH5α* 感受态细胞中,涂布 LB 平板(含卡那霉素)37℃培养,挑取单菌落测序,得到基因片段的长度为 1856 bp,与西瓜 *PDC* 基因的 cDNA 序列进行比对,序列基本一致(图 9),插入片段为预期目的基因片段,证明过表达载体 *PBI121-CIPDC* 构建成功。

### 3 讨论与结论

丙酮酸脱羧酶(PDC)作为糖酵解途径中调控丙

|                            |      |                                                                                  |      |
|----------------------------|------|----------------------------------------------------------------------------------|------|
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 1    | ATGGACGCCAAATCGGATCGG                                                            | 78   |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 1    | -----CCGGCT                                                                      | 62   |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 79   | TGCACCATCCAAATTCGGTCCCGGCCACCGTCGTAACCTCCTCGGAGGCCACCCTCGGCCGCCACCTCGCCCGCCG     | 156  |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 63   | TGCACCATCCAAATTCGGTCCCGGCCACCGTCGTAACCTCCTCGGAGGCCACCCTCGGCCGCCACCTCGCCCGCCG     | 140  |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 157  | CTAGTCCAAATCGGCGTCACCGATGTTTCACTGTCCCTGGCGATTTTAACTAACGCTTCTCGACCATTTAATCGCG     | 234  |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 141  | CTAGTCCAAATCGGCGTCACCGATGTTTCACTGTCCCTGGCGATTTTAACTAACGCTTCTCGACCATTTAATCGCG     | 218  |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 235  | GAGCCTGCGCTCAATAACATCGGCTGCTGTAAAGAGCTTAATGCTGGATACGGCGTACGGCTACGCTAGGTCGGG      | 312  |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 219  | GAGCCTGCGCTCAATAACATCGGCTGCTGTAAAGAGCTTAATGCTGGATACGGCGTACGGCTACGCTAGGTCGGG      | 296  |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 313  | GCGCTCGGCGCGTGTCTGTCACGTTACCGTCGGCGGCTTAGCGTTCTGAATGCCATCGCCGGCGCTTACAGTGA       | 390  |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 297  | GCGCTCGGCGCGTGTCTGTCACGTTACCGTCGGCGGCTTAGCGTTCTGAATGCCATCGCCGGCGCTTACAGTGA       | 374  |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 391  | AACTTGCCGCTCATTTCATAGTCGGTGGCCCTAACTCCAACGATTATGGAACAAAGAAATCCTTCATACAAATG       | 468  |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 375  | AACTTGCCGCTCATTTCATAGTCGGTGGCCCTAACTCCAACGATTATGGAACAAAGAAATCCTTCATACAAATG       | 452  |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 469  | GCGCTCCCTGACTTCAGCAAGAACTCCGATGCTTCAAAACGTCACCTTCTTCAAGCTGTTGTGAATAATCTCGAA      | 546  |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 453  | GCGCTCCCTGACTTCAGCAAGAACTCCGATGCTTCAAAACGTCACCTTCTTCAAGCTGTTGTGAATAATCTCGAA      | 530  |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 547  | GATGCTCATGAGTTGATTGATACTGCCATTTCTACTGCCTTGAAGAAAGCAAGCCTGTTTACATTAGTATTAGTTGT    | 624  |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 531  | GATGCTCATGAGTTGATTGATACTGCCATTTCTACTGCCTTGAAGAAAGCAAGCCTGTTTACATTAGTATTAGTTGT    | 608  |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 625  | AATTTGCCGTTGGATTCTCTCATCTACTTTACGCGGTGATCCAGTTCATTTTCACTTTCTCCAAAGTGAGCAATCCA    | 702  |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 609  | AATTTGCCGTTGGATTCTCTCATCTACTTTACGCGGTGATCCAGTTCATTTTCACTTTCTCCAAAGTGAGCAATCCA    | 686  |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 703  | CATGGGTTGAGGCGAGCAGTGGAGGCGAGCAGACATTTCTTGAACAAAGCTGTGAAGCCAGTGCTTCTTGGTGGGCT    | 780  |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 687  | CATGGGTTGAGGCGAGCAGTGGAGGCGAGCAGACATTTCTTGAACAAAGCTGTGAAGCCAGTGCTTCTTGGTGGGCT    | 764  |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 781  | AAAAATGCGAGTTGCCAAGGCTTGTGATGCAATTTGTGGAGCTTGCCGATGCTTGTGGCTATGCCTTGGCTGTAATGCCA | 858  |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 765  | AAAAATGCGAGTTGCCAAGGCTTGTGATGCAATTTGTGGAGCTTGCCGATGCTTGTGGCTATGCCTTGGCTGTAATGCCA | 842  |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 859  | TCAGCGAAAGGGTTCTGTCGCGAGCACCATCTCATTTTCACTTGAAGCTTACTGGGTTGCTGTCAGTACCGCTTCTGG   | 936  |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 843  | TCAGCGAAAGGGTTCTGTCGCGAGCACCATCTCATTTTCACTTGAAGCTTACTGGGTTGCTGTCAGTACCGCTTCTGG   | 920  |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 937  | GCCGAGATCGTTGAGTCTGCCGATGCGTACTTGTGTGCGGCGCAATTTTCAATGACTACAGCTCTGTTGGTTACTCT    | 1014 |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 921  | GCCGAGATCGTTGAGTCTGCCGATGCGTACTTGTGTGCGGCGCAATTTTCAATGACTACAGCTCTGTTGGTTACTCT    | 998  |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 1015 | CTTTTACTCAAAAGGCGAGAAGGCCATTATTGTGACGCTGATCGAGTGACCATTTGCAATGGACCTACATTGGCTGT    | 1092 |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 999  | CTTTTACTCAAAAGGCGAGAAGGCCATTATTGTGACGCTGATCGAGTGACCATTTGCAATGGACCTACATTGGCTGT    | 1076 |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 1093 | GTTCTAATGAAAGATTTCTTCAAGCACTTTCAAAGCGTGTAAACAACACACTACTGCATATGAAACTACCATAGA      | 1170 |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 1077 | GTTCTAATGAAAGATTTCTTCAAGCACTTTCAAAGCGTGTAAACAACACACTACTGCATATGAAACTACCATAGA      | 1154 |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 1171 | ATCTTGTCTCTGAAGGCCATCTTTGAAATCTGAGCTTAAGAGGCGTTGAGAGTCAATATTTTGTTCACACATTT       | 1248 |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 1155 | ATCTTGTCTCTGAAGGCCATCTTTGAAATCTGAGCTTAAGAGGCGTTGAGAGTCAATATTTTGTTCACACATTT       | 1232 |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 1249 | CAGAAGATGCTCAGTAATCAACGGCTGTGATTGCTGAAACAGGGGATCTTGGTTTAACTGCCAGAACTTAAATTA      | 1326 |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 1233 | CAGAAGATGCTCAGTAATCAACGGCTGTGATTGCTGAAACAGGGGATCTTGGTTTAACTGCCAGAACTTAAATTA      | 1310 |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 1327 | CCAAAGGATCGCGATATGAATTCAAATGCAGTATGGTTCATTGGTTGGTCAGTTGGTGTACACTTGGATATGCA       | 1404 |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 1311 | CCAAAGGATCGCGATATGAATTCAAATGCAGTATGGTTCATTGGTTGGTCAGTTGGTGTACACTTGGATATGCA       | 1388 |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 1405 | CAAGCTGTTCCAGAAAAAGAGTAATGCTTGTATGCTGATGCAAGTTTCAAGTGACTGCACAAGACATATCGACG       | 1482 |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 1389 | CAAGCTGTTCCAGAAAAAGAGTAATGCTTGTATGCTGATGCAAGTTTCAAGTGACTGCACAAGACATATCGACG       | 1466 |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 1483 | ATGATCCGTTGCGGACAGAAAAACCATCATATTTCTTGATAAACAATGCTGGCTACACCATTGAAGTCGAGATCCACGA  | 1560 |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 1467 | ATGATCCGTTGCGGACAGAAAAACCATCATATTTCTTGATAAACAATGCTGGCTACACCATTGAAGTCGAGATCCACGA  | 1544 |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 1561 | GGGCTTTAATGTGATCAAGAACTGGAACACACGGCATTTGGTCGATGCAATTCACAATGGGATGGGAAGTGTTCG      | 1638 |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 1545 | GGGCTTTAATGTGATCAAGAACTGGAACACACGGCATTTGGTCGATGCAATTCACAATGGGATGGGAAGTGTTCG      | 1622 |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 1639 | ACGACAAAGGTTCCGATGCGAGGAAAGGCTTGTGAGGCGCAATGAAACAGCTACAGAAAGCAAAAGGACAGCTTGTGT   | 1716 |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 1623 | ACGACAAAGGTTCCGATGCGAGGAAAGGCTTGTGAGGCGCAATGAAACAGCTACAGAAAGCAAAAGGACAGCTTGTGT   | 1700 |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 1717 | TTCAATTGAGCTTATTGCTCACAAGGATGATAAAGCAAGAGCTATTGGAATGGGTTCAAGAGTCTCTGCTGCCAAG     | 1794 |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 1701 | TTCAATTGAGCTTATTGCTCACAAGGATGATAAAGCAAGAGCTATTGGAATGGGTTCAAGAGTCTCTGCTGCCAAG     | 1778 |
| <i>CIPDC/1-1818</i>        | 1795 | AGCCGCGCTCCCAATCCTCAGTAG                                                         | 1818 |
| <i>P81121-CIPDC/1-1856</i> | 1779 | AGCCGCGCTCCCAATCCTCAGTAGGGATCCCGGGTGGTCAGTCCCTTATGTTACGTCCTGAGAAATCCCCCTCCCCGG   | 1856 |

图9 *CIPDC* 基因过表达载体测序结果Fig. 9 Sequencing result of the overexpression vector of the *CIPDC* gene

酮酸向乙醛转化的关键酶,是植物糖代谢网络的核心节点,其在丙酮酸代谢、能量供应及次生代谢物合成中发挥多重作用,进而在植物果实发育与品质形成过程中扮演着重要角色<sup>[9]</sup>。笔者选取西瓜自交系 W-812 为基因克隆专属材料,成功从其果肉中克隆得到 *CIPDC* 基因,其 CDS 全长 1818 bp,编码 605 个氨基酸,生物信息学分析表明,该基因编码蛋白为疏水、非跨膜稳定蛋白,含有 46 个潜在磷酸化位点,且启动子区存在厌氧诱导、茉莉酸甲酯响应等多种逆境与激素相关顺式作用元件,提示该基因不仅参与基础代谢,还可能介导西瓜对生物与非生物胁迫的响应过程。系统进化分析显示,西瓜与甜瓜、冬瓜、黄瓜等葫芦科作物 *PDC* 基因同源性超过 97%,且聚集于同一进化分支,表明该基因在葫芦科作物进化中具有高度保守性,推测其在瓜类果实代谢途径中具有相似的核心功能,为跨物种基因功能研究提供了依据。

笔者选取果实发育期存在明显差异的两个西瓜自交系,以 W-1338 为基因表达模式分析的专属材料,系统解析 *CIPDC* 基因的时空表达特征,这一材料设计为揭示基因与西瓜果实发育周期、品质形成的关联性提供了更具针对性的试验依据。qRT-PCR 分析结果表明,*CIPDC* 基因在西瓜果肉中呈特异性高表达,在营养器官中表达量显著较低,且在 W-1338 果实授粉后 14、35、49 d 的发育进程中表达量持续上升,与果实成熟、糖分积累进程高度同步。这一表达规律与甜柿<sup>[20]</sup>、杨梅<sup>[21]</sup>等果树中 *PDC* 基因的表达特征一致。莫荣利<sup>[20]</sup>研究发现,甜柿 *PDC* 相关基因随果实成熟表达量升高,参与果实自然脱涩与口感改良;黄小榕等<sup>[21]</sup>证实杨梅 *MrPDC1* 基因表达量与果实乙醛、乙醇含量呈正相关,调控果实风味形成。结合本研究结果,推测 *CIPDC* 基因在西瓜果肉中通过调控糖酵解代谢流,为果实发育提供能量与物质基础,同时参与果实糖分积累、风味物质合成等品质形成过程;而长果实发育期自交系 W-1338 中 *CIPDC* 基因的持续上调表达,进一步说明该基因的表达量变化与西瓜果实发育周期相耦合,其表达水平的提升可能是果实成熟进程中的重要分子调控事件,为解析不同生育期西瓜果实品质形成的分子机制提供了关键基因线索。

启动子顺式作用元件分析发现,*CIPDC* 基因上游存在多个厌氧诱导、茉莉酸甲酯响应等调控元件,提示该基因除参与果实发育与品质形成外,还

可能在西瓜逆境适应过程中发挥调控作用。已有研究证实,*PDC* 基因在植物耐涝、耐盐、耐热等逆境响应中具有重要功能,张计育等<sup>[11]</sup>通过过量表达猕猴桃 *AdPDC2* 基因显著提高拟南芥耐涝性与耐热性,Cui 等<sup>[13]</sup>证实白颖藁草 *CrPDC1* 基因过表达可增强拟南芥盐胁迫抗性。本研究中 *CIPDC* 基因的逆境相关顺式作用元件,暗示其可能参与西瓜对淹水、盐渍等非生物胁迫的响应调控,但其具体调控机制、与逆境响应通路的关联,以及在不同生育期西瓜材料中的胁迫响应差异,仍需后期通过逆境处理试验进一步验证。

笔者以 PBI121 为载体,利用 *XbaI* 与 *BamHI* 双酶切结合同源重组技术,成功将 *CIPDC* 基因插入组成型表达启动子 35S 下游,构建了过表达载体 PBI121-*CIPDC*,测序验证插入的片段序列与预期一致,为后续开展 *CIPDC* 基因的功能验证提供了关键工具。基因过表达技术是解析基因功能<sup>[22-24]</sup>、改良作物性状<sup>[25-26]</sup>的常用方法,已广泛应用于作物抗逆<sup>[27]</sup>、抗病<sup>[28-29]</sup>及产量性状<sup>[30]</sup>的遗传改良。结合本研究的表达模式与生物信息学分析结果,推测过表达 *CIPDC* 可能通过增强西瓜果肉中糖酵解途径的代谢效率,进一步促进果实糖分积累与风味物质合成,同时可能提升西瓜对非生物胁迫的抗性;而基于本研究中两个不同生育期自交系的材料设计,后续可将该过表达载体分别转化至 W-812、W-1338 中,探究 *CIPDC* 基因在不同发育周期西瓜材料中对果实成熟进程、品质形成及逆境响应的调控差异,为精准改良不同熟性西瓜的农艺性状提供理论与技术支撑。

综上所述,笔者通过特异性材料设计,完成了 *CIPDC* 基因的克隆与生物信息学分析,明确了其在长果实发育期西瓜自交系 W-1338 中的时空表达规律,证实其为西瓜果肉发育与成熟进程中的关键基因,并成功构建过表达载体。本研究的材料设计为解析 *CIPDC* 基因与西瓜果实发育期、品质形成的关联性提供了独特视角,而 *CIPDC* 基因在不同生育期西瓜材料中的功能差异、逆境响应机制,以及其调控西瓜糖代谢与品质形成的分子通路,将是后续研究的核心方向。后续可通过遗传转化获得不同自交系的转基因西瓜材料,结合生理生化测定、转录组测序等手段,深入揭示 *CIPDC* 基因在西瓜果实发育、糖代谢调控及逆境适应中的功能与分子机制,为西瓜不同熟性品种的品质改良与抗性育种提供重要的基因资源和理论依据。

## 参考文献

- [1] 张磊,武竞春,张海英,等.西瓜重要性状功能基因研究进展[J].园艺学报,2023,50(12):2748-2764.
- [2] 周艺璇.西瓜翠衣的营养保健成分及药用价值研究进展[J].现代食品,2022,28(8):51-53.
- [3] Manikishore M, Rathee S, Chauhan A S, et al. Watermelon Rind: Nutritional composition, therapeutic potential, environmental impact, and commercial applications in sustainable industries[J]. Current Pharmaceutical Design, 2025, 32 (15): 1141-1154.
- [4] Borecka M, Karaš M. A comprehensive review of the nutritional and health-promoting properties of edible parts of selected cucurbitaceae plants[J]. Foods, 2025, 14(7):1200.
- [5] 吴俊凌,刘玉霜,赵曦,等.药西瓜中3个新的葫芦烷型三萜苷及其抗炎活性研究[J].中国中药杂志,2023,48(15):4124-4129.
- [6] 林玲,孙光明,李绍鹏,等.园艺植物果实中糖代谢的研究进展[J].华南热带农业大学学报,2005,11(4):37-41.
- [7] Diefenbach R J, Duggleby R G. Pyruvate decarboxylase from *Zymomonas mobilis*. Structure and re-activation of apoenzyme by the cofactors thiamin diphosphate and magnesium ion[J]. Biochemical Journal, 1991, 276(2):439-445.
- [8] Liu F H, Zhao Y, Wang X R, et al. Regulatory roles of GA and sugar metabolism genes with metabolomic profiling during seed dormancy release in *Gleditsia sinensis*[J]. BMC Plant Biology, 2025, 25(1):1231.
- [9] 童盼盼. *ZjERF4* 调控 *ZjHXX5/6* 参与枣果实糖代谢的分子机制[D].新疆阿拉尔:塔里木大学,2024.
- [10] 黄小丽,周丽容,郑雪文,等.榴莲蔗糖合成酶基因家族的挖掘与表达模式分析[J].中国南方果树,2025,54(6):81-88.
- [11] 张计育,黄胜男,潘德林,等.过量表达‘金魁’猕猴桃丙酮酸脱羧酶基因(*AdPDC2*)提高拟南芥的耐涝性和耐热性[C]//中国园艺学会2017年论文摘要集.中国园艺学会第十三次全国代表大会暨2017年学术年会,2017:43.
- [12] 史仁玖,常正尧,王健美,等.白花丹参丙酮酸脱羧酶基因的克隆和表达分析[J].中草药,2013,44(1):90-95.
- [13] Cui H T, Ma C Z, Wang L Y, et al. Heterologous expression of *Carex rigescens* PDC1 enhances salt tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana* seedlings[J]. Plant Science, 2026, 362:112810.
- [14] 周淑婷,李茂福,王华,等.*PpMYB113* 基因在桃花青苷合成和积累中的功能分析[J].农业生物技术学报,2025,33(3):536-546.
- [15] 刘彤彤,李肖慧,杨骏龙,等.*ZmSTART1* 调控玉米维管束建成的功能研究[J].生物技术通报,2025,41(4):115-122.
- [16] 陈天祥,杨顺瑛,苏彦华.水稻 *OsAMT1;1* 过表达提升氮肥减排情境下的氮素利用效率[J].土壤,2023,55(6):1176-1186.
- [17] Tuerxun Z, Li C Y, Li X R, et al. Overexpression of *GhCAD6* in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) enhances fiber quality and increases lignin content in fibers[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2025, 26(19):9518.
- [18] Xiang L L, Cheng J J, Guo Z F, et al. *PpbZIP23* from a native kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) regulates osmotic stress tolerance in transgenic rice[J]. Journal of Plant Physiology, 2025, 315:154634.
- [19] González-agüero M, Troncoso S, Gudenschwager O, et al. Differential expression levels of aroma-related genes during ripening of apricot (*Prunus armeniaca* L.) [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2009, 47(5):435-440.
- [20] 莫荣利.中国甜柿自然脱涩相关基因 *ADH* 和 *PDC* 的分离及功能验证[D].武汉:华中农业大学,2015.
- [21] 黄小榕,薛蕾,张泽煌,等.*PDC* 和 *ADH* 基因家族成员在杨梅果实成熟和包装处理期间的表达及其与乙醛和乙醇积累的关系[J].果树学报,2022,39(10):1784-1797.
- [22] Fan X Q, Li H X, Xiong Y, et al. Strigolactones inhibit axillary bud outgrowth through transcription factor MdSPL6-mediated regulation of ABA levels in apple[J]. Plant Physiology, 2025, 199(3):517.
- [23] 陈士杰. *OsOFP5* 过表达转基因水稻农艺性状和油菜素甾醇响应的分析[D].长春:吉林大学,2023.
- [24] 戚旺,毕一凡,轩强兵,等.水稻 *OsRhoGDI1* 过表达影响粒型及种子活力[J].生物技术通报,2024,40(11):152-161.
- [25] Qian H M, Li C, Lu Y N, et al. *TaSPX3* enhances wheat resistance to leaf rust by antagonising TaDil9-mediated repression of pathogenesis-related genes[J]. Plant Biotechnology Journal, 2025, 24:1031-1043.
- [26] 冯向君,王宏宇,于静,等.过表达拟南芥 *NPR1* 增强黄瓜对枯萎病和白粉病的抗性[J].中国农业科学,2023,56(14):2701-2712.
- [27] Zhu Z G, Liu X G, Li Z L, et al. A *SIP1* gene of trihelix family, *SIGT-33*, promotes chilling tolerance and fruits set under prolonged cold stress in tomatoes[J]. BMC Plant Biology, 2025, 25(1):1376.
- [28] Li J, Cui C, Han F, et al. Genome-wide identification and analysis of the *H2A* gene family in wheat and functional verification of *TaH2A.10* in resistance to virus[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2025, 229(C):110587.
- [29] 马艳明. *StCPD* 基因过表达马铃薯对盐胁迫的生理响应及转录组分析[D].兰州:甘肃农业大学,2023.
- [30] 朱亚婷,肖郑鹏,周佳丽,等.过表达腺苷生物合成正相关基因 *GIPNP* 提高灵芝腺苷的含量[J].微生物学通报,2023,50(10):4401-4412.