

本文引用格式:马迎新,商金海,于蕙珊,等. 苹果 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶基因克隆及蛋白表达[J]. 聊城大学学报(自然科学版), 2025, 38(2): 307-316.

Citation format: MA Yingxin, SHANG Jinhai, YU Yishan, et al. Cloning and protein expression of 8 glycosyltransferase genes in group A of the apple GT1 family[J]. Journal of Liaocheng University (Natural Science Edition), 2025, 38(2): 307-316.

文章编号 1672-6634(2025)02-0307-10

DOI 10.19728/j.issn1672-6634.2024090001

苹果 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶基因克隆及蛋白表达

马迎新, 商金海, 于蕙珊, 刘倩, 张新莹, 冀芦沙, 李攀

(聊城大学 药学与食品工程学院, 山东 聊城 252059)

摘要 糖基转移酶(Glycosyltransferase, GT)是一类可糖基化修饰小分子化合物的酶类,可改变受体分子的水溶性、抗逆性等生物学功能。为探究候选糖基转移酶基因的组织表达模式,qRT-PCR 检测 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶基因在苹果植株不同部位的基因表达水平。结果发现,7 个糖基转移酶基因 *MdUGT91AJ1*、*MdUGT91AJ3*、*MdUGT91AJ4*、*MdUGT91AJ5*、*MdUGT91AJ6*、*MdUGT91AJ7* 和 *MdUGT91C7* 在不同组织部位中均有表达,差异较小,而 *MdUGT91AJ2* 差异较大。为了异源表达候选糖基转移酶的蛋白,以苹果‘嘎拉’(*Malus domestica* Gala) cDNA 为模板成功克隆了这 8 个基因,分别将其连接到原核表达载体 pGEX-2T 中,将阳性重组质粒转化到大肠杆菌(*Escherichia coli*) BL-21 中。经过诱导条件探索,发现不同糖基转移酶的最佳诱导条件如下:*MdUGT91AJ1*、*MdUGT91AJ2*、*MdUGT91AJ3* 为 20 °C, 1.0 mmol·L⁻¹ IPTG 诱导,培养 16 h;*MdUGT91AJ4*、*MdUGT91AJ5*、*MdUGT91AJ6*、*MdUGT91AJ7* 为 16 °C, 0.5 mmol·L⁻¹ IPTG 诱导,培养 24 h;糖基转移酶 *MdUGT91C7* 为 20 °C, 0.75 mmol·L⁻¹ IPTG 诱导,培养 24 h。总之,本研究检测了 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶基因在苹果植株不同部位的基因表达水平,成功构建了其原核表达载体,经诱导纯化后获得了它们的酶蛋白,为下一步糖基转移酶糖基化修饰功能鉴定奠定了基础。

关键词 苹果;糖基转移酶;基因克隆;蛋白表达

中图分类号 S661.1;Q943.2

文献标志码 A

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



电子版文后附有支撑材料

Cloning and Protein Expression of 8 Glycosyltransferase Genes in Group A of the Apple GT1 Family

MA Yingxin, SHANG Jinhai, YU Yishan, LIU Qian,
ZHANG Xinying, JI Lusha, LI Pan

(School of Pharmaceutical Sciences and Food Engineering, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

Abstract Glycosyltransferases (GT) are a class of enzymes that can glycosylated small molecule compounds, altering the biological functions of receptor molecules such as water solubility and stress resist-

收稿日期:2024-09-03

基金项目:国家自然科学基金项目(32001982);山东省自然科学基金项目(ZR2021MC062)资助

通信作者:李攀,女,汉族,博士,讲师,研究方向:微生物与生化药学,E-mail:lipan@lcu.edu.cn.

ance. To investigate the tissue expression pattern of candidate glycosyltransferase genes, qRT-PCR was used to detect the gene expression levels of 8 glycosyltransferase genes in the GT1 family group A in different parts of apple plants. The results revealed that 7 glycosyltransferase genes, *MdUGT91AJ1*, *MdUGT91AJ3*, *MdUGT91AJ4*, *MdUGT91AJ5*, *MdUGT91AJ6*, *MdUGT91AJ7* and *MdUGT91C7* were expressed in different tissue sites with small variations, while *MdUGT91AJ2* varied greatly. In order to heterologously express the proteins of candidate glycosyltransferases, these 8 genes were successfully cloned using apple 'Gala' (*Malus domestica* Gala) cDNA as template, which were ligated into the prokaryotic expression vector pGEX-2T respectively, and the positive recombinant plasmids were transformed into *E. coli* (*Escherichia coli*) BL-21. After exploring the induction conditions, it was found that the optimal induction conditions for different glycosyltransferases are as follows: *MdUGT91AJ1*, *MdUGT91AJ2*, *MdUGT91AJ3* are at 20 °C, induced with 1.0 mmol · L⁻¹ IPTG, and cultured for 16 h; *MdUGT91AJ4*, *MdUGT91AJ5*, *MdUGT91AJ6*, *MdUGT91AJ7* were induced at 16 °C with 0.5 mmol · L⁻¹ IPTG and cultured for 24 h; *MdUGT91C7* was induced at 20 °C with 0.75 mmol · L⁻¹ IPTG and cultured for 24 h. In conclusion, this study detected the gene expression levels of 8 glycosyltransferase genes in group A of GT1 family in different parts of apple plants, successfully constructed their prokaryotic expression vectors, and obtained their enzyme proteins after induced purification, which lays the foundation for the next step of glycosylation modification function identification of glycosyltransferases.

Key words apple; glycosyltransferase; gene cloning; protein expression

0 引言

一些具有重要生理意义的小分子和寡糖的生物合成需要单糖的共价连接,这一过程被称为糖基化,由专门修饰的糖基转移酶(Glycosyltransferase, GTases)来完成^[1, 2]。研究发现,糖基化修饰发生在碳水化合物、蛋白质、脂类、激素和其他次生代谢物中,可以改变它们的重要特性,如溶解性、稳定性、生物活性或分子间相互作用等^[3]。此外,糖基化在植物的所有生命过程(包括生长、发育和应激反应)中都起着至关重要的生理作用^[4]。根据受体底物中糖苷附属物的锚原子,GT 通常可分为 O-、N-、S-和 C-GT。供体底物通常是由高能磷酸酯键介导的活化形式的糖(主要是 NDP-五糖和 NDP-己糖),多种(修饰)糖残基对糖苷产物的生理功能有不同的影响^[5]。根据 Carbohydrate-Active enZymes Database(CAZy 数据库, <http://www.cazy.org/>),GTs 构成了一个超家族,根据序列同一性、保守基团和糖苷键的立体化学等分为 110 个家族^[6]。值得注意的是,在 CAZy 数据库中的 110 个 GT 家族中,GT1 家族的特征酶数量最多,这主要是因为它们对许多有价值的小分子具有显著的糖基化能力^[7]。植物界的 GT1 酶还能糖基化大量具有生物活性的低分子量天然产物,如类黄酮、苯基酮、萜类化合物和类固醇,从而调节糖基化产物的稳定性、溶解性和生物活性,并调节植物激素或解毒排异^[8]。到目前为止,由于解析的晶体结构数量较少,对 GT1 家族酶的了解仍然有限。鉴于 GT1 家族糖基转移酶的重要性,对 GT1 家族基因的克隆及功能鉴定仍然具有重要的意义。

生物表达系统常常被用于生产工业和医疗领域的异源蛋白质,这些蛋白质可包括重组疫苗、药物和农产品^[9]。已经使用的表达系统包括:细菌、酵母、霉菌、哺乳动物、植物和昆虫。革兰氏阴性细菌等原核细胞是最早用于基因技术工程的细胞之一^[10]。最重要的细胞之一是大肠杆菌(*Escherichia coli*),它已被广泛用于克隆重组 DNA,并随后用于生产异源蛋白质^[11]。细菌表达系统有几个优点,包括繁殖速度快、营养要求简单廉价、表达水平高、转化过程快速简便^[12]。

pGEX-2T 载体是一种常用的原核表达载体,该载体多克隆位点区域含有多个常用的内切酶位点序列,便于不同基因的克隆;且全序列中含有 tac 启动子、GST 标签序列,是一种高效的蛋白表达载体^[13]。本研究为了纯化 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶的酶蛋白,以‘嘎拉’苹果 cDNA 为模板成功克隆了这 8 个基因的全长序列,并将其连接到原核表达载体 pGEX-2T 中,经菌液 PCR 和双酶切验证后,再分别将阳性重组质粒转化到大肠杆菌 BL-21,异源表达苹果糖基转移酶的酶蛋白,为后续该家族糖基转移酶的底物鉴定奠定基础。

1.1 植物材料

为探究 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶在苹果不同组织中的表达情况,将山东省临清市中华海棠园生长良好的 10 年生‘嘎拉’苹果树(*Malus × domestica* Borkh.)的根、茎、叶、花、果实和种子进行取材。取样后用液氮快速冷冻,−80 ℃保存备用。本研究使用的苹果幼苗材料是本实验室保存的‘嘎拉’苹果种子培育的幼苗。苹果幼苗在 MS(Murashige and Skoog)培养基中培养,2 周后,将幼苗移植到混合(基质:蛭石:珍珠岩 4:1:1)营养基质中,置于 24 ℃、16 h 光照/8 h 黑暗的培养箱中。

1.2 方法

1.2.1 RNA 提取与 cDNA 反转录。取 0.1 g 正常培养 4 周的‘嘎拉’苹果幼苗或−80 ℃冰箱中保存的不同苹果组织,用预冷的无菌研钵和研杵在液氮中将其研磨成粉末。立即加入 1.0 mL TRIzol(批号 LM-527,上海联迈生物工程有限公司),按说明书的方法分离总 RNA,并使用反转录试剂盒 PrimeScript™ RT reagent Kit(批号 RR037Q,大连宝生物工程有限公司)反转录成 cDNA,保存于−20 ℃,用于后续实时荧光定量 PCR (Quantitative Real-time PCR, qRT-PCR)和原核表达载体 pGEX-2T 构建。

1.2.2 实时荧光定量 PCR。我们分析了网上公布的芯片数据,发现苹果糖基转移酶家族 1 A 组的 8 个糖基转移酶可能参与了三酮类除草剂的解毒代谢机制。为了探究其作用机制,我们根据 NCBI 中苹果基因组数据库中公布的 GT1 家族 A 组中的 8 个糖基转移酶基因核苷酸序列,使用 Primer Express 3.0 qRT-PCR 软件(表 1)设计苹果糖基转移酶基因 *MdUGT91AJ1* (MD02G1083600)、*MdUGT91AJ2* (MD02G1084000)、*MdUGT91AJ3* (MD15G1211400)、*MdUGT91AJ4* (MD10G1101200)、*MdUGT91AJ5* (MD02G1083100)、*MdUGT91AJ6* (MD02G1083300)、*MdUGT91AJ7* (MD02G1083800)和 *MdUGT91C7* (MD08G1200700)的 qRT-PCR 引物。

表 1 8 个苹果糖基转移酶基因的 qRT-PCR 引物

Tab. 1 qRT-PCR primers for the 8 apple glycosyltransferase genes

基因名称	引物序列	功能
<i>qMdUGT91AJ1</i>	F: GCTCAAAAGGGTCACCAAAATC	qRT-PCR
	R: GGTAGCTCGGAACCTCGGC	
<i>qMdUGT91AJ2</i>	F: TAGCATTGCAAAGGTGGGGTG	qRT-PCR
	R: CGATGAGCGGGGAAAAGGAG	
<i>qMdUGT91AJ3</i>	F: ATGCACGAAAAGCAGGTTGG	qRT-PCR
	R: CCCGTACTAACTCGCCCTCT	
<i>qMdUGT91AJ4</i>	F: CGAAAAGCAGGTTGGGTTGG	qRT-PCR
	R: TTTGCCCGTACTAACTCGCC	
<i>qMdUGT91AJ5</i>	F: TCGCGGGTTCGATTCAAGAT	qRT-PCR
	R: CATGCTGATGTGGTGCTGAG	
<i>qMdUGT91AJ6</i>	F: TGGCTCGAAAGTAAAGAAACCG	qRT-PCR
	R: CCCAAATAAAGGGCAACCCG	
<i>qMdUGT91AJ7</i>	F: GGTGTTGGGGTTTCCTTACCC	qRT-PCR
	R: CTCCAACCAACCCGCTTAT	
<i>qMdUGT91C7</i>	F: CTATGCCCCCTACTGGCTTC	qRT-PCR
	R: GGACCGAGGTAGGCCAGG	
<i>qMdUBQ</i>	F: CGTGGTGGTTTTTAAG	qRT-PCR
	R: GCAGAAACAGTACCAT	
<i>cMdUGT91AJ1</i>	F: ATGGAGAGCAAAGATCAG	全长基因扩增
	R: GTCATTGACTAGGTGAATT	

(续)表 1 8 个苹果糖基转移酶基因的 qRT-PCR 引物
Tab. 1 qRT-PCR primers for the 8 apple glycosyltransferase genes

基因名称	引物序列	功能
<i>cMdUGT91AJ2</i>	F: ATGGAGAGCAAAGATCAG	全长基因扩增
	R: TTAGGTTGAAGTGGGCC	
<i>cMdUGT91AJ3</i>	F: ATGGAGCGCAAAGATGAG	全长基因扩增
	R: TTAAGTTGAAGCGGGCCAAG	
<i>cMdUGT91AJ4</i>	F: ATGGAGCGCAAAGATGAG	全长基因扩增
	R: TTAAGTTGAAGCGGGGCC	
<i>cMdUGT91AJ5</i>	F: ATGCCATTTCTGGAGGTC	全长基因扩增
	R: TTATTTGGGCCAGGTTTC	
<i>cMdUGT91AJ6</i>	F: ATGGAGAGCAAAGATCAG	全长基因扩增
	R: TTATTTGGGCCAGGTTTC	
<i>cMdUGT91AJ7</i>	F: ATGGAAAGCAAAGATCAG	全长基因扩增
	R: CTAGGAGGAAGTGGGCC	
<i>cMdUGT91C7</i>	F: ATGGACAACCAGAACACTC	全长基因扩增
	R: TTATTCTGGACACCTCG	

以 80 ng cDNA 为模板,使用 2× Luminaris Color Probe Low ROX qPCR Master Mix(批号 K0951,赛默飞世尔科技有限公司)和 20× TaqMan 基因表达检测试剂盒(批号 4440888,赛默飞世尔科技有限公司),以 20 μL 的总体积在 IQ5 qRT-PCR 系统(型号 BIO-RAD IQ5,上海艾研生物科技有限公司)上进行 qRT-PCR。PCR 程序:94 ℃ 预变性 10 min;94 ℃ 变性 15 s,56 ℃ 退火 15 s,40 个循环,延伸 72 ℃ 2 min;采用 2^{-ΔΔCT} 算法分析数据。

1.2.3 基因克隆与原核表达载体 pGEX-2T 构建。使用 Primer Express 3.0 工具设计了 8 个糖基转移酶基因高度保守区的全长扩增引物(表 1),以正常培养 4 周的‘嘎拉’苹果幼苗 cDNA 为模板,采用梯度 PCR 仪(型号 BIO-RAD T100,上海艾研生物科技有限公司)进行全长基因扩增。DreamTaq™ DNA 聚合酶(批号 K1071,赛默飞世尔科技有限公司)。PCR 程序:初始变性 94 ℃ 2 min;变性 94 ℃ 1 min;退火 58 ℃ 1 min;36 个循环;最后延伸 72 ℃ 5 min;快速冷却 4 ℃ 保存。

将上述 PCR 扩增产物通过琼脂糖凝胶电泳进行分离,阳性扩增片段通过琼脂糖凝胶试剂盒(批号 DP209-02,北京天根生化科技有限公司)纯化回收。将其连接到中间载体 pEASYBlunt Zero(北京全式金生物技术有限公司)中,目的基因 PCR 验证后筛选出阳性克隆,送至上海生工生物技术有限公司进行测序,100%正确,表明基因克隆成功(表 S1)。用限制性酶切的克隆片段与线性化的 pGEX-2T 载体连接,转化到大肠杆菌感受态中,通过 Amp⁺ 抗性筛选,PCR 扩增与双酶切验证后,确定阳性重组菌落。8 个基因的酶切位点分别如下:MdUGT91AJ1, SacI/HindIII;MdUGT91AJ2, SacI/HindIII;MdUGT91AJ3, EcoRI/BamHI;MdUGT91AJ4, EcoRI/BamHI;MdUGT91AJ5, SacI/HindIII;MdUGT91AJ6, SacI/HindIII;MdUGT91AJ7, EcoRI/BamHI;MdUGT91C7, EcoRI/BamHI。

1.2.4 大肠杆菌目的蛋白诱导及纯化。将阳性重组质粒转化到 E. coli BL-21 中,接种到 2 mL 含有 Amp⁺ 抗生素的 LB 培养基中,37 ℃ 振荡培养过夜。当 OD₆₀₀ 值约为 0.6 时,分别加入终浓度 0.0、0.25、0.5、0.75、1.0、1.25 mmol·L⁻¹ 的 IPTG,温度设为 12、14、16、18、20、22 ℃,培养时间设为 12、16、20、24、28、32 h,进行诱导糖基转移酶蛋白表达。取 10 mL 菌液,4200 rpm 离心 10 min,倒掉上清液,菌体用 1 mL 1×PBS (pH 7.4)缓冲液重悬,反复冻融后,12 000 rpm 离心 15 min,取全部上清液。重组蛋白的纯化采用 His-tag 蛋白纯化试剂盒 Tagged Protein Purification Kit(批号 BYX8228C,常州北源新生物科技有限公司),按照说明书进行纯化。纯化后的蛋白,通过紫外分光光度计于波长 280 nm 下进行定量测定。本研究中 8 个糖基转移酶的氨基酸序列见电子版文后的支撑材料表 S1。

1.3 数据统计与分析

本研究所有数据均使用 Excel 2019 和 SPSS 21.0 软件进行处理和统计分析,以“平均值±标准误差”表示, P 值小于 0.05 为有统计学意义。

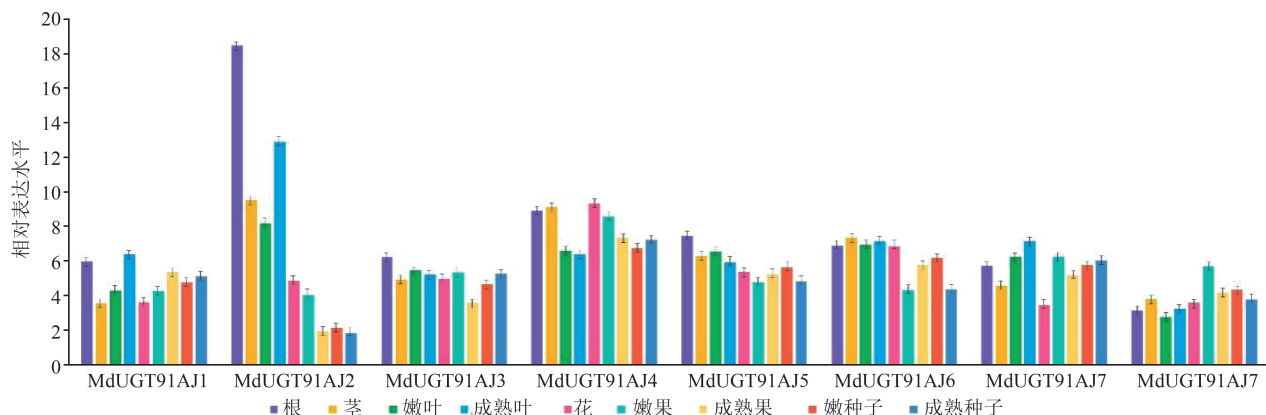
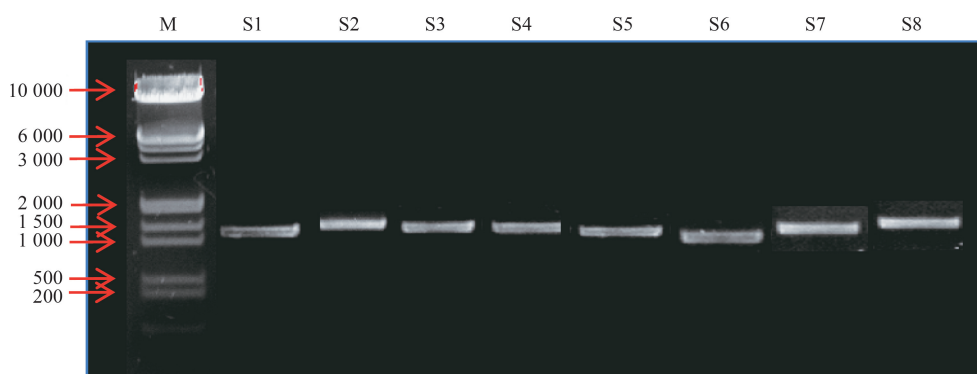


图1 qRT-PCR 分析MdUGT91AJ1 (MD02G1083600), MdUGT91AJ2 (MD02G1084000), MdUGT91AJ3 (MD15G1211400), MdUGT91AJ4 (MD10G1101200), MdUGT91AJ5 (MD02G1083100), MdUGT91AJ6 (MD02G1083300), MdUGT91AJ7 (MD02G1083800), MdUGT91C7 (MD08G1200700) 基因不同组织部位 mRNA 表达水平。注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, $n = 3$ 。

Fig. 1 qRT-PCR analysis mRNA expression of the MdUGT91AJ1 (MD02G1083600), MdUGT91AJ2 (MD02G1084000), MdUGT91AJ3 (MD15G1211400), MdUGT91AJ4 (MD10G1101200), MdUGT91AJ5 (MD02G1083100), MdUGT91AJ6 (MD02G1083300), MdUGT91AJ7 (MD02G1083800), MdUGT91C7 (MD08G1200700) genes in different tissue locations. Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, $n = 3$.



注: M, Marker; S1, MdUGT91AJ1 PCR 扩增(1368 bp); S2, MdUGT91AJ2 PCR 扩增(1428 bp); S3, MdUGT91AJ3 PCR 扩增(1410 bp); S4, MdUGT91AJ4 PCR 扩增(1410 bp); S5, MdUGT91AJ5 PCR 扩增(1338 bp); S6, MdUGT91AJ6 PCR 扩增(1362 bp); S7, MdUGT91AJ7 PCR 扩增(1410 bp); S8, MdUGT91C7 PCR 扩增(1464 bp)。

Note: M, Marker; S1, MdUGT91AJ1 PCR amplification (1368 bp); S2, MdUGT91AJ2 PCR amplification (1428 bp); S3, MdUGT91AJ3 PCR amplification (1410 bp); S4, MdUGT91AJ4 PCR amplification (1410 bp); S5, MdUGT91AJ5 PCR amplification (1338 bp); S6, MdUGT91AJ6 PCR amplification (1362 bp); S7, MdUGT91AJ7 PCR amplification (1410 bp); S8, MdUGT91C7 PCR amplification (1464 bp).

图2 糖基转移酶基因MdUGT91AJ1 (MD02G1083600), MdUGT91AJ2 (MD02G1084000), MdUGT91AJ3 (MD15G1211400), MdUGT91AJ4 (MD10G1101200), MdUGT91AJ5 (MD02G1083100), MdUGT91AJ6 (MD02G1083300), MdUGT91AJ7 (MD02G1083800), MdUGT91C7 (MD08G1200700) PCR 扩增。

Fig. 2 PCR amplification of glycosyltransferase genes MdUGT91AJ1 (MD02G1083600), MdUGT91AJ2 (MD02G1084000), MdUGT91AJ3 (MD15G1211400), MdUGT91AJ4 (MD10G1101200), MdUGT91AJ5 (MD02G1083100), MdUGT91AJ6 (MD02G1083300), MdUGT91AJ7 (MD02G1083800), MdUGT91C7 (MD08G1200700).

2 结果与分析

2.1 实时荧光定量 PCR 分析 8 个糖基转移酶基因不同组织部位的表达情况

为了解 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶基因的组织表达模式,本研究通过 qRT-PCR 检测了这 8 个基

因在苹果植株不同部位的基因表达水平。结果如图 1 所示,在苹果植株的不同部位,糖基转移酶基因 *MdUGT91AJ1*、*MdUGT91AJ3*、*MdUGT91AJ4*、*MdUGT91AJ5*、*MdUGT91AJ6*、*MdUGT91AJ7* 和 *MdUGT91C7* 均有表达,差异较小。而糖基转移酶基因 *MdUGT91AJ2* 在苹果不同部位的表达水平差异较大,在根系中表达水平最高,其次在成熟叶片中,而在成熟种子中表达水平最低。这个结果表明,GT1 家族 A 组中 7 个糖基转移酶在植物体内可能在相同的部位起作用,功能相似,而糖基转移酶 *MdUGT91AJ2* 较为特殊。

2.2 克隆 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶基因

以正常培养 4 周的‘嘎拉’苹果幼苗的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增,得到 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶基因的全长目的条带(图 2)。用 DNA 凝胶回收试剂盒回收目标片段,在 16 °C 条件下,与克隆载体 pEASYBlunt Zero 连接。测序结果 100% 正确,表明本研究中 8 个糖基转移酶基因 *MdUGT91AJ1*、*MdUGT91AJ2*、*MdUGT91AJ3*、*MdUGT91AJ4*、*MdUGT91AJ5*、*MdUGT96AJ1*、*MdUGT91AJ7* 和 *MdUGT91C7* 克隆成功。

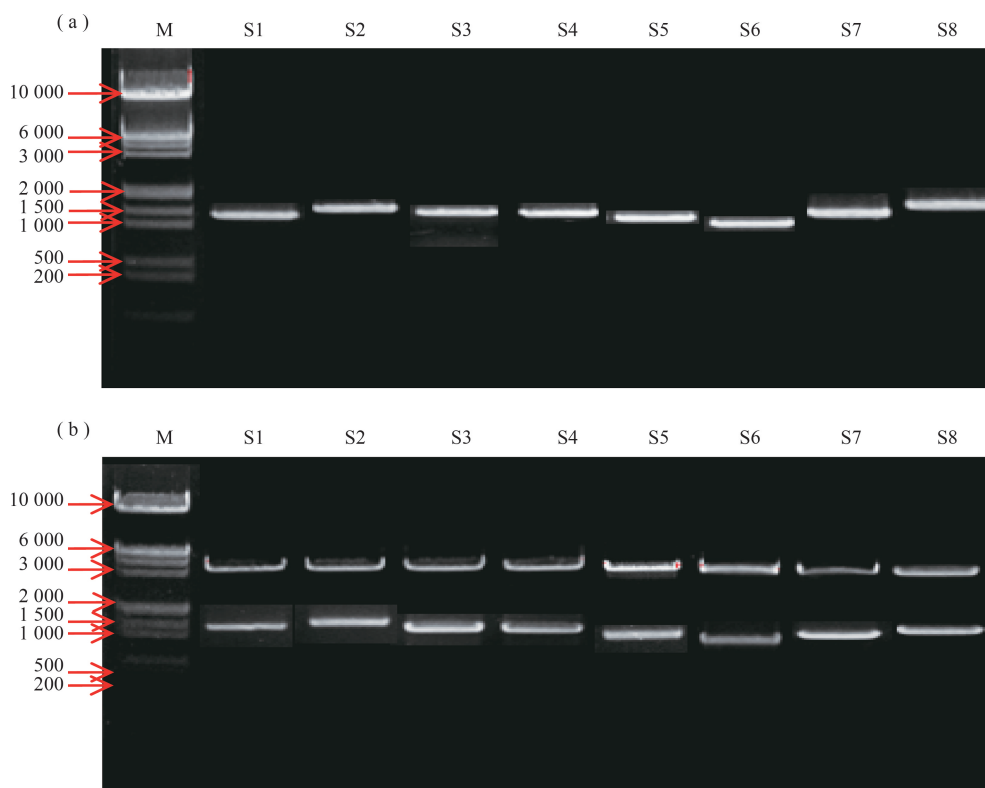


图 3 糖基转移酶基因 *MdUGT91AJ1* (*MD02G1083600*), *MdUGT91AJ2* (*MD02G1084000*), *MdUGT91AJ3* (*MD15G1211400*), *MdUGT91AJ4* (*MD10G1101200*), *MdUGT91AJ5* (*MD02G1083100*), *MdUGT91AJ6* (*MD02G1083300*), *MdUGT91AJ7* (*MD02G1083800*), *MdUGT91C7* (*MD08G1200700*) 原核表达载体构建 (a) M, Marker; S1-S8, *MdUGT91AJ1* (1368 bp)、*MdUGT91AJ2* (1428 bp)、*MdUGT91AJ3* (1410 bp)、*MdUGT91AJ4* (1410 bp)、*MdUGT91AJ5* (1338 bp)、*MdUGT91AJ6* (1362 bp)、*MdUGT91AJ7* (1410 bp)、*MdUGT91C7* (1464 bp) 依次菌液 PCR 验证阳性克隆; (b) M, Marker; S1-S8, 含 *MdUGT91AJ1*、*MdUGT91AJ2*、*MdUGT91AJ3*、*MdUGT91AJ4*、*MdUGT91AJ5*、*MdUGT91AJ6*、*MdUGT91AJ7*、*MdUGT91C7* 片段的 pGEX-2T 阳性质粒依次双酶切验证。

Fig. 3 Construction of prokaryotic expression vectors for glycosyltransferase genes *MdUGT91AJ1* (*MD02G1083600*), *MdUGT91AJ2* (*MD02G1084000*), *MdUGT91AJ3* (*MD15G1211400*), *MdUGT91AJ4* (*MD10G1101200*), *MdUGT91AJ5* (*MD02G1083100*), *MdUGT91AJ6* (*MD02G1083300*), *MdUGT91AJ7* (*MD02G1083800*), *MdUGT91C7* (*MD08G1200700*). (a) M, Marker; S1-S8, *MdUGT91AJ1* (1368 bp), *MdUGT91AJ2* (1428 bp), *MdUGT91AJ3* (1410 bp), *MdUGT91AJ4* (1410 bp), *MdUGT91AJ5* (1338 bp), *MdUGT91AJ6* (1362 bp), *MdUGT91AJ7* (1410 bp), *MdUGT91C7* (1464 bp) were sequentially validated for positive clones by bacterial liquid PCR; (b) M, Marker; S1-S8, pGEX-2T positive plasmids containing *MdUGT91AJ1*, *MdUGT91AJ2*, *MdUGT91AJ3*, *MdUGT91AJ4*, *MdUGT91AJ5*, *MdUGT91AJ6*, *MdUGT91AJ7*, *MdUGT91C7* fragments were sequentially double digested for validation.

2.3 构建 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶基因的原核表达载体

用限制性酶切的克隆片段与线性化的 pGEX-2T 载体连接,42 °C 热激后,将连接产物转到大肠杆菌感受态中,经氨苄青霉素(Amp⁺)抗性筛选后,菌液 PCR 扩增[图 3(a)]与双酶切验证后[图 3(b)],确定阳性重组菌落,表明原核表达载体 MdUGT91AJ1-pGEX-2T, MdUGT91AJ2-pGEX-2T, MdUGT91AJ3-pGEX-2T, MdUGT91AJ4-pGEX-2T, MdUGT91AJ5-pGEX-2T, MdUGT96AJ1-pGEX-2T, MdUGT91AJ7-pGEX-2T, MdUGT91C7-pGEX-2T 构建成功。

2.4 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶最适 IPTG 诱导浓度确定

经过不同诱导条件探索,发现在诱导温度 20 °C 和培养时间 16 h 时,糖基转移酶 MdUGT91AJ1、MdUGT91AJ2、MdUGT91AJ3 在 IPTG 终浓度为 1.0 mmol·L⁻¹时,酶蛋白表达含量最高(表 3);糖基转移酶 MdUGT91AJ4、MdUGT91AJ5、MdUGT91AJ6、MdUGT91AJ7 在 IPTG 终浓度为 0.5 mmol·L⁻¹时,蛋白表达含量最高(表 2);糖基转移酶 MdUGT91C7 在 IPTG 终浓度为 0.75 mmol·L⁻¹,蛋白表达含量最高(表 2)。

表 2 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶最适 IPTG 诱导浓度确定

Tab. 2 Determination of optimal IPTG induction concentrations for 8 glycosyltransferases in Group A of GT1 family

酶种类/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	IPTG 浓度/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$					
	0.0	0.25	0.50	0.75	1.0	1.25
MdUGT91AJ1	28.46±1.98	45.75±2.16	106.17±6.57	142.35±10.81	218.37±12.49	154.53±7.62
MdUGT91AJ2	13.76±0.67	67.24±6.25	88.06±8.72	169.63±14.23	242.58±17.81	156.31±15.76
MdUGT91AJ3	26.35±2.46	78.41±5.92	104.27±7.59	128.59±11.67	169.34±13.53	121.67±8.84
MdUGT91AJ4	13.28±1.06	92.56±6.48	173.91±8.43	135.67±4.24	112.46±2.79	89.64±7.56
MdUGT91AJ5	21.78±2.11	67.45±5.32	129.58±7.15	92.71±6.58	75.53±7.41	34.89±2.43
MdUGT91AJ6	11.46±1.25	57.38±4.46	148.27±6.87	79.45±3.36	49.41±3.26	22.48±2.02
MdUGT91AJ7	14.69±1.37	71.45±4.53	203.59±7.52	82.57±4.43	59.57±3.07	19.63±1.35
MdUGT91C7	10.72±0.84	35.63±2.12	79.46±4.61	193.68±8.24	105.24±9.12	36.78±2.04

2.5 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶异源表达大肠杆菌最适培养温度确定

经过不同诱导条件探索,发现在培养时间 16 h 和 IPTG 终浓度 1.0 mmol·L⁻¹时,糖基转移酶 MdUGT91AJ1、MdUGT91AJ2、MdUGT91AJ3、MdUGT91C7 最适培养温度 20 °C 时,酶蛋白表达含量最高(表 3);糖基转移酶 MdUGT91AJ4、MdUGT91AJ5、MdUGT91AJ6、MdUGT91AJ7 在最适培养温度 20 °C 时,酶蛋白表达含量最高(表 3)。

表 3 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶异源表达大肠杆菌最适培养温度确定

Tab. 3 Determination of optimal culture temperature for heterologous expression of 8 glycosyltransferases in Group A of GT1 family in *Escherichia coli*

酶种类/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	温度/°C					
	12	14	16	18	20	22
MdUGT91AJ1	15.37±1.25	37.91±2.43	64.38±4.78	125.69±7.96	196.43±17.57	115.48±9.52
MdUGT91AJ2	11.58±0.43	39.52±1.79	62.64±4.23	145.37±10.58	212.61±19.45	146.72±10.36
MdUGT91AJ3	17.79±1.52	54.03±2.48	82.41±3.68	131.49±12.56	189.25±16.38	152.14±11.27
MdUGT91AJ4	14.52±1.13	57.41±4.68	189.55±9.23	145.31±5.48	109.78±8.23	45.78±3.89
MdUGT91AJ5	8.57±0.51	34.26±2.69	102.41±5.92	78.53±4.87	46.23±3.65	21.35±1.05
MdUGT91AJ6	9.48±0.82	39.32±3.16	169.53±7.26	112.47±7.13	53.78±4.53	26.35±1.27
MdUGT91AJ7	12.09±0.93	45.26±3.07	178.43±8.17	101.59±6.98	46.37±2.84	21.47±1.22
MdUGT91C7	16.81±1.13	42.37±2.78	102.64±7.39	145.51±9.12	196.42±12.78	78.95±5.28

2.6 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶异源表达大肠杆菌最适培养时间确定

经过不同诱导条件探索,发现在培养温度 20 ℃ 和 IPTG 终浓度 1.0 mmol · L⁻¹ 时,糖基转移酶 MdUGT91AJ1、MdUGT91AJ2、MdUGT91AJ3 最适培养时间为 16 h 时,酶蛋白表达含量最高(表 4);糖基转移酶 MdUGT91AJ4、MdUGT91AJ5、MdUGT91AJ6、MdUGT91AJ7、MdUGT91C7 在最适培养时间为 24 h 时,酶蛋白表达含量最高(表 4)。

表 4 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶异源表达大肠杆菌最适培养时间确定
Tab. 4 Determination of optimal incubation time for heterologous expression of eight glycosyltransferases in E. coli in group A of GT1 family

酶种类/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	时间/h					
	12	16	20	24	28	32
MdUGT91AJ1	57.45±4.81	173.74±9.25	136.71±6.42	78.45±4.51	56.34±2.48	25.37±1.14
MdUGT91AJ2	62.34±5.27	189.45±9.51	134.85±5.14	106.78±7.46	74.45±6.69	35.19±1.21
MdUGT91AJ3	38.79±2.24	196.21±9.51	157.03±9.12	114.68±8.35	78.51±5.46	25.09±1.75
MdUGT91AJ4	27.26±1.67	78.34±5.12	168.42±8.25	225.57±16.79	125.69±5.57	35.41±1.82
MdUGT91AJ5	22.41±1.28	69.25±3.43	125.78±6.33	184.89±11.25	68.43±4.13	34.57±1.18
MdUGT91AJ6	19.67±1.20	57.51±3.78	118.46±8.14	199.52±15.09	76.34±5.32	38.41±2.45
MdUGT91AJ7	17.12±1.56	46.78±3.89	151.68±7.32	213.78±14.37	87.45±4.11	35.86±1.57
MdUGT91C7	18.24±1.67	51.69±3.21	163.94±7.19	226.27±10.48	121.05±7.52	42.21±3.28

3 结论

许多生化反应都与糖基化有关,糖基转移酶(GT)通过糖基化在植物生长发育、激素平衡和有毒物质清除等方面发挥着重要作用^[14]。同时,多种糖基化供体参与了糖基化反应。作为一种依赖于 UDP-糖基化供体的酶,UGTs 可以选择性地催化天然和非天然化合物的定点糖基化修饰,已成为基于 UDP-糖的糖基化过程中很有前途的催化剂,被广泛应用于众多领域的研究和发现^[15]。本研究利用高保真酶扩增了 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移酶的全长基因,通过基因工程技术,将阳性重组质粒 MdUGT91AJ1-pGEX-2T, MdUGT91AJ2-pGEX-2T, MdUGT91AJ3-pGEX-2T, MdUGT91AJ4-pGEX-2T, MdUGT91AJ5-pGEX-2T, MdUGT91AJ6-pGEX-2T, MdUGT91AJ7-pGEX-2T 和 MdUGT91C7-pGEX-2T 转化到大肠杆菌 BL-21,经过不同诱导条件探索,获得了它们的酶蛋白。通过 8 个糖基转移酶基因在不同苹果组织部位的表达模式分析可知,糖基转移酶基因 *MdUGT91AJ2* 在苹果树的根部表达量最为显著,另外在成熟的叶片中表达量也较高,从此结果可以猜测该基因在面临外界刺激对植物本身有一定的保护功能,诱导获得糖基转移酶的蛋白对下一步寻找酶的底物有着十分重要的作用。

许多植物 GTs 主要在高尔基体内的膜结合复合物中发挥作用,因此使用传统方法表达、纯化和生化鉴定具有挑战性。GTs 的异源表达大多是通过表达含有催化结构域而缺乏膜锚定区域的蛋白质可溶部分来实现的。大肠杆菌是最常用的蛋白质表达系统之一^[16],其蛋白表达是后续糖基转移酶底物的鉴定的基础。Jones 等通过大肠杆菌异源表达拟南芥中糖基转移酶蛋白 UGT73C6 和 UGT78D1,体外酶促反应发现 UGT73C6 和 UGT78D1 参与黄酮醇糖苷的合成^[17];Wang 等通过大肠杆菌异源表达系统证明了拟南芥糖基转移酶 UGT74E2 可以将葡萄糖基团转移到小分子化合物生长素中,对其进行糖基化修饰^[18];Chen 等发现大肠杆菌中异源表达的拟南芥糖基转移酶蛋白 UGT75B1 可以糖基化修饰脱落酸,参与植物的非生物胁迫途径^[19];水稻糖基转移酶 OsUGT706C2^[20]、OsGT43B^[21]、OsGT61^[22]等均通过大肠杆菌异源表达系统证明了其糖基化修饰功能。但目前,经济作物苹果糖基转移酶的相关研究较少。Li 等首次对苹果糖基转移酶

家族 1 内的 229 个糖基转移酶基因分析并划分为 18 个组别,该研究为苹果糖基转移酶基因的功能研究提供了基础^[23]。

大肠杆菌的生长代谢由三个阶段(繁殖期、稳定期和衰老期)组成,本研究中转转化构建的阳性重组质粒的 *E. coli* BL-21 表达目的蛋白主要是在大肠杆菌生长代谢稳定期完成的。因此,对大肠杆菌生长代谢稳定期的培养条件进行优化,得到糖基转移酶蛋白的最佳诱导表达条件具有非常重要的意义。本研究将 OD₆₀₀ 值约为 0.6 时的大肠杆菌,加入终浓度分别为 0.0、0.25、0.5、0.75、1.0、1.25 mmol·L⁻¹ 的 IPTG 诱导表达,诱导温度分别为 12、14、16、18、20、22 °C,诱导培养时间为 12、16、20、24、28、32 h,发现糖基转移酶 MdUGT91AJ1、MdUGT91AJ2、MdUGT91AJ3 在 IPTG 终浓度为 1.0 mmol·L⁻¹,诱导温度 20 °C,诱导培养时间 16 h 时,酶蛋白表达含量最高;糖基转移酶 MdUGT91AJ4、MdUGT91AJ5、MdUGT91AJ6、MdUGT91AJ7 在 IPTG 终浓度为 0.5 mmol·L⁻¹,诱导温度 16 °C,诱导培养时间 24 h 时,蛋白表达含量最高;糖基转移酶 MdUGT91C7 在 IPTG 终浓度为 0.75 mmol·L⁻¹,诱导温度 20 °C,诱导培养时间 24 h 时,蛋白表达含量最高。

参 考 文 献

- [1] SIRIRUNGRUANG S, BARNUM C R, TANG S N, et al. Plant glycosyltransferases for expanding bioactive glycoside diversity[J]. *Natural Product Reports*, 2023, 40(7): 1170-1180.
- [2] GHARABLI H, DELLA GALA V, WELNER D H. The function of UDP-glycosyltransferases in plants and their possible use in crop protection[J]. *Biotechnology Advances*, 2023, 67: 108182.
- [3] DIMUNOVA D, MATOUSKOVA P, PODLIPNA R, et al. The role of UDP-glycosyltransferases in xenobiotic resistance[J]. *Drug Metabolism Reviews*, 2022, 54(3): 282-298.
- [4] HOFFMANN T D, KURZE E, LIAO J, et al. Genome-wide identification of UDP-glycosyltransferases in the tea plant (*Camellia sinensis*) and their biochemical and physiological functions[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1191625.
- [5] GHARABLI H, WELNER D H. The sugar donor specificity of plant family 1 glycosyltransferases[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2024, 12: 1396268.
- [6] SHI Q, ABDEL-HAMID A M, SUN Z, et al. Carbohydrate-binding modules facilitate the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass: Releasing reducing sugars and dissociative lignin available for producing biofuels and chemicals[J]. *Biotechnology Advances*, 2023, 65: 108126.
- [7] DRULA E, GARRON M L, DOGAN S, et al. The carbohydrate-active enzyme database: functions and literature[J]. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50(D1): D571-D577.
- [8] HE B, BAI X, TAN Y, et al. Glycosyltransferases: mining, engineering and applications in biosynthesis of glycosylated plant natural products[J]. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 2022, 7(1): 602-620.
- [9] POURESMAEIL M, AZIZI-DARGAHLLOU S. Factors involved in heterologous expression of proteins in *E. coli* host[J]. *Archives of Microbiology*, 2023, 205(5): 212.
- [10] KOLBER N S, FATTAL R, BRATULIC S, et al. Orthogonal translation enables heterologous ribosome engineering in *E. coli*[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 599.
- [11] DEPPING P, ROMAN LARA M M, KESIDIS A, et al. Heterologous expression of membrane proteins in *E. coli*[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2022, 2507: 59-78.
- [12] MCELWAIN L, PHAIR K, KEALEY C, et al. Current trends in biopharmaceuticals production in *Escherichia coli*[J]. *Biotechnology Letters*, 2022, 44(8): 917-931.
- [13] ALIZADEH A A, RASOULI S, JAMSHIDI KANDJANI O, et al. Expression, purification and characterization of functional teduglutide using GST fusion system in prokaryotic cells[J]. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2023, 13(3): 592-600.
- [14] CHENG W, FANG X, GUAN Z, et al. Functional characterization and structural basis of a reversible glycosyltransferase involved in plant chemical defence[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2023, 21(12): 2611-2624.
- [15] SUN G, LIAO J, KURZE E, et al. Apocarotenoids are allosteric effectors of a dimeric plant glycosyltransferase involved in defense and

- lignin formation[J]. *New Phytologist*, 2023, 238(5): 2080-2098.
- [16] ZHAO M, ZHANG N H. Recent advances of heterologous gene expression in *E. coli*[J]. *Progress in Physiological Science*, 1998, 29(3): 226-30.
- [17] JONES P, MESSNER B, NAKAJIMA J, et al. UGT73C6 and UGT78D1, glycosyltransferases involved in flavonol glycoside biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(45): 43910-43918.
- [18] WANG T, LI P, MU T, et al. Overexpression of UGT74E2, an *Arabidopsis* IBA glycosyltransferase, enhances seed germination and modulates stress tolerance via ABA signaling in rice[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(19): 7239.
- [19] CHEN T T, LIU F F, XIAO D W, et al. The *Arabidopsis* UDP-glycosyltransferase75B1, conjugates abscisic acid and affects plant response to abiotic stresses[J]. *Plant Molecular Biology*, 2020, 102(4-5): 389-401.
- [20] ZHANG F, GUO H, HUANG J, et al. A UV-B-responsive glycosyltransferase, OsUGT706C2, modulates flavonoid metabolism in rice[J]. *Science China-Life Sciences*, 2020, 63(7): 1037-1052.
- [21] 陈露露, 王建飞. 水稻 OsGT43B 基因功能及其调控因子分析[J]. *南京农业大学学报*, 2020, 43(2): 213-222.
- [22] ZHONG R, ZHOU D, PHILLIPS D R, et al. A rice GT61 glycosyltransferase possesses dual activities mediating 2-O-xylosyl and 2-O-arabinosyl substitutions of xylan[J]. *Planta*, 2024, 259(5): 115.
- [23] LI Y, LI P, ZHANG L, et al. Genome-wide analysis of the apple family 1 glycosyltransferases identified a flavonoid-modifying UGT, MdUGT83L3, which is targeted by MdMYB88 and contributes to stress adaptation[J]. *Plant Science: An International Journal of Experimental Plant Biology*, 2022, 321: 111314.

(责任编辑:刘庆松)

支撑材料

Supporting Information

苹果 GT1 家族 A 组中 8 个糖基转移
酶基因克隆及蛋白表达Cloning and Protein Expression of 8 Glycosyltransferase
Genes in Group A of the Apple GT1 Family

马迎新,商金海,于蕙珊,刘倩,张新莹,冀芦沙,李攀
MA Yingxin, SHANG Jinhai, YU Yishan, LIU Qian,
ZHANG Xinying, JI Lusha, LI Pan

(聊城大学 药学与食品工程学院, 山东 聊城 252059)

(School of Pharmaceutical Sciences and Food Engineering, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

常用缩写

GT Glycosyltransferase
IPTG Isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside
GST Glutathione-S-transferase
MS Murashige and Skoog
PCR Polymerase Chain Reaction
Amp⁺ Ampicillin

表 S1 8 个糖基转移酶基因的 CDS 编码序列

Tab. S1 The CDS coding sequences of 8 glycosyltransferase genes

MdUGT91AJ1 (MD02G1083600) CDS 序列

ATGGAGAGCAAAGATCAGAAGAACTTCACATAGCCATGTTCCCATGGCTAGCCTACGCCACCTAATGTCATTT
CTGGAGGTCTCCAAGTTCTTAGCTCAAAAGGGTCACCAAACTCCTTCATCTCCACACCCAAAAACATCAATCGCT
TCCGATCCTCCTCCCTTTCCCTCTTATCGATTTTCATCGAGCTTCCTCTCCCCGCCGTCGACGGCTTACCGGAATCCG
CCGAGTTCCGAGCTACCAATCAACAAATCACGCATTTTCATCCAACATTCGGGCGTCAACTGGGTCGTCCACGACGT
CATTTGCTACTGGCTTCCCCGAGTTGCCACCCAGCTCGGAGTCAACTCGGTATTCTTCAGCGTCACCAACGCCACTA
CCTTGCCCTTTTTCGGTCCCTCCGTCCGAGTTACTCAGCGACAACTCCGGCGGCCAGAGGACTTTACGGTCGTCCCC
GAGTGGGTGCACTATCCTTCCAACGTTGCTTTTAAGCTGCATGAGATGGTGAGCCACTGGGACTGCATGGAGGAC
GAGGTCTCTGATTTTCAGAGAGCCGCGCGTGCGATTCAAGATTGTAATTTTGTGACTATGCGGAGCTGCACCGAG
TTTGAATCTGACGCGGTGAGTCTGCTCAAGAAGATCTACGGCAAACCCATTGTTCCTAGGGCTGCTGCCGCCG
ACTCAGCGCCGCATCAGCATGGCGTCGCTGACGATCGATGGGATGAGAAGTGGGAAGTGTTGAGAGAGTGGCTCG
AAAATAAGAAACCGAACTCGGTGGTTTACATCGCATTCGGCACTGAGGTGACTCCTAGCCAAGAGTTGATGCATG
AGTTGGCACATGGGATAGAGAAATCCGGGTTGCCCTTTATTTGGGTGGTCAACAATCGCCCGTTGGTGGAGGGTG
TGTTGGGGGCCGATATCATTCCACCCGGGTTTCAAACCTCGAGTGGAGGATCGAGGCTTGGTCTGGAGGGGTTGGGC
CCCACAACCTTAAGATTCTGGATCATGCATCGGTGCGAGGTTTCTAACTCATTGTGGTTGGAGTTCAGTTGTTGAG
GCACTACGGTTTGGGCTGGTTCTGATTTTGTTCAGGTGCTTATTCAGACCAACCGTTGAACGCGAGACTAATGC
ACGATAAGCGGGTGGGGTTGGAGATACCAAGGGACGAGCGAGACGGATCGTTTACGAGTGAAGTGGCGGAGT
TGATTAGGCGAGTGATGGTGGAGAAAGAAGGTGAGTCAATAAGGTCAAATGCATGGGCCATGAAGGAGATCTTT
GGCAACGTAGAGTTGAACAAGCAGTGCTTCGACGAGTTTCTCGGGTCCTTGAAACCTGGCCAATTCCACCTAGTC
AATGA

MdUGT91AJ2 (MD02G1084000) CDS 序列

ATGGAGAGCAAAGATCAGAAGAACTTCACATAGCCATGTTCCCATGGCTAGCATTGCAAAGGTGGGGTGCCTAC
GGCCACCTAATGTCATTTCTCGAGGTCTCCAAGTTCTTAGCTCAAAAAGGGTCATCGAATCTCCTTCATCTCCACCC
CCAAAAACATCAATCGTCTCCGATCCTCCTCTTTTCCCCGCTCATCGATTTCTGTCGAGCTTCCTCTCCCTGCCGTC
GACGGCTTACCGGAATCCGCCGAGTCCACCTCCGAGTACCAATCAACAAAGTCCCATACCTCAAAAAAGCATACG
ACTTGCTCAAGCCTTCAGTCACCCATTTTCATCGAACACTCGGGCGTCAACTGGATCGTCCACGACTTCATTTGCTA
CTGGGTTCCCCGAGTCGCCACTCAGCTCGGAGTCAACTCGGTCTACTTCAGCGTCAACACGCCAATTTCCTTGTTTT
TCATCGGTTCTCCGTCCGAGTTACTCAGCAATAAACGCAGGCGCGGAGGACTTTACTGTCGTCCCCGAGTGGGT
CGACTATCCTTCCAACGTTGCTTTTAAACTGCATGAGATGGTGACCCACTGGGATTGCATGGACGACGAGGTCTCC
GATTTTCAGAGACTCGCAGGTGCGATTCAAGATTGTAATTTTGTACTATGCGGAGCTGCACCGAGTTCGAATCT
GACGCTGTAAGTCTGCTCAGGAAGATCTACGGCAAACAGTTGTTCCACTCGGGATGCTGCCGCCAGTCTCAGCGC
CGCATCAGCACGGCGTCGCTGATGATCGAGGGGATGAGACGTGGGAAGTGCTGAGAGGTTGGCTCGAAAATAAGA
AACCGAACTCGGTGGTTTTACATCGCATTTCGGCACTGAGGTGACTCCGAGTCTAGAATTGATGCACGAGTTGGCACA
TGGGATAGAGAAATCCGGGTGCCCCTTATCTGGGTGGTCAACAATCGCCCCCTTAGTGAGGGGTGTGTTGGGGGCT
GATATCATTCCACCCGGGTTTCAAACCTCGAGTGGAGGATCGAGGCTTGGTCTGGAGGGGTGGGGCCCCACAACCTTA
AGATTCTAGCTCATGCATCGATCGGAGGTTTCCTAACTCATTGCGGTTGGAGTTCAGTTGTTGAGGCACTACGGTT
TGGGCGGGTTTTGATTTTGTTCGGGTGCTTATTCAGACCAACCGTTGAACGCAAGACTAATGCATGATAAGCG
GGTCCGGTTGGAGATACCGAGGGACGAGCAAGACGGATCGTTTACGAGTGACTCGGTGGCGGAGTTGATTAGGCG
AGTGATGGTGGAGAAAGAAGGTGAGTCAATAAGGTCAATGCATGGGCCATGAAGGAGATCTTTGGCAACGTAG
AGTTGAACAACAGGTGCTTGGACGAATTCACCTCGAACCCCTTGAAACCTGGCCCCACTTCAACCTAA

MdUGT91AJ3 (MD15G1211400) CDS 序列

ATGGAGCGCAAAGATGAGAAGAACTTCACATCGCCATGTTCCCATGGCTAGCCTACGGCCACCTGATGCCATTTTC
TCGAGGTCTCCAAGTTCTTAGCTCAAAAAGGTACCAAATCTCCTTCATCTCCACCCCCAAAACATCAATCGCCT
CCGGTCATCCTCCCTTTCCCTACTCATCGATTTTCGTTGAGCTTCCTCTCCCCGCCGTCGACGGCTTACCTGAATCCGT
CGAGTCCACCTCCCAGCTACCAATCAACAAAGTCCCCTACCTCAAAAAAGCCTACGACTTGCTCAAGCCTGCAGTCA
CGCATTTTCGTCCAACACTCGGGCGTCAACTGGGTGCTCCACGACGTTATTTGCTACTGGCTGCCCCAAGTCGCCACT
CAGCTCGGAGTCAACTCGGTCTTCTTCAGCATCATCAACGCCACTTCCTTAGCTTTCGGCGGTCTCTCCGTCTGAGTT
ACTCGGCGATAAACCGCCGGCGGCCGGAGGACTTTACGGTCGTTCCCGAGTGGTTCGACTATCCTTCCACCGTCGCTT
ATAAGCTGCACGAGATGGTGAGTCATTGGGATTGCATGGACGACAATGTCTCCGATTTTCAGAGGCTCGCGGTAC
GGTTCAAGATTGTAATTTTGTGACTATACGGAGCTGCACCGAGGTTGAATCTGACGCGGTGAGTCTGCTCAGAAA
TTTATACGGTAAACCCGTTGTTCCACTCGGGCTGCTGCCGACCAGCTCAGCACCGCATCAGCCCGCGGCACTAACG
ATGGAGCGGATGAGAAGTGGGAAGTGTTGAGAGAGTGCTCGAAAATAAGAAACCGAACTCGGTGGTTTTACATC
GCACTCGGCACCGAGGTGACTCTGAGTCAAGAAGTTATGCACGAGTTGGCTCACGGGATAGAGAAATCGGGGTTG
CCCTTTATTTGGGTGGTCAACAATCGCCCGTTAGTGAGGACGCGTTGGGGTCTAATATCCTTCCACTCGGATTTG
AAACCCGAGTGGACGGTCGGGGCTTTGTGTGGAGGGGTGGGGCCCCAACGTAAGATTTTGGGTCATATCTCAG
TTGGAGGATTCCTGACTCATTGCGGTTGGAGTTCAATTATTGAAGCATTAGGGTTTGGGAGGGTTTTGATTTTGT
TTTCGGGTGCAAATTCGGACCAAGGGTTGAACTCGAGACTAATGCACGAAAAGCAGGTTGGGTGGAGATACCGA
GGGACGAGCGAGATGGGTGCTTTACGAGTGACTCGGTGGCCGAGTTGATTAGGCGAGTGATGGTGGAGAAAGAG
GGCGAGTTAGTACGGGCAAATGCACGGGCCATGAAGGAGATATTTGGCAACGTAGAGTTGAACAAAAAGTGCTT
GGACGAGTTCACTCGGTCCTTGAACTTGGCCCCGCTTCAACTTA

MdUGT91AJ4 (MD10G1101200) CDS 序列

ATGGAGCGCAAAGATGAGAAGAACTTCACATCGCCATGTTCCCATGGCTAGCCTACGGCCACCTGATGCCATTTTC
TCGAGGTCTCCAAGTTCTTAGCTCAGAAAGGTACCAAATCTCCTTCATCTCCACCCCCAAAATATCAATCGCCTC
CGGTCATCCTCCCTTTCCCTACTCATCGATTTTCGTTGAGCTTCCTCTCCCCGCCGTCGACGGCTTACCTGAATCCGT
CGAGTCCACCTCCCAGCTACCAATCAACAAAGTCCCCTACCTCAAAAAAGCCTACGAATTGCTCAAGCCTGCAGTC
ACGCATTTTCGTCCAACACTCGGGCGTCAACTGGGTGCTCCACGACGTTATTTGCTACTGGCTGCCCCAAGTCGCCAC
TCAGCTCGGAGTCAACTCGGTCTTCTTCAGCATCATCAACGCCACTTCCTTAGCCTTCGGCGGTCTCTCCGTCTGAGT
TACTCGGTGATAAACCGCGCGGCCGGAGGACTTTACGGTCGTTCCCGAGTGGTTCGACTATCCTTCCACCGTCGC
TTATAAGCTGCACGAGATGGTGAGTCATTGGGATTGCATGGACGACAATGTCTCCGATTTTCAGAGGCTCGCGGT
TACAGTTCAAGATTGTAATTTTGTGACTATACGGAGCTGCACCGAGGTTGAATCTGACGCGGTGAGTCTGCTCAG

AAATTTATACGGCAAACCCGTTGTTCCACTCGGGCTGCTGCCGACCAGCTCAGCACCCGCATCAGCCCAGCGGCGCTA
ACGATGGAGCGGATGAGAAGTGGGAAGTGTGAGAGAGTGGCTCGAAAATAAGAAACCGAACTCGGTGGTTTAC
ATCGCACTCGGCACCGAGGTGACTCTGAGTCAAGAGCTTATGCACGAGTTGGCTCACGGGATAGAGAAATCGGGG
TTGCCCTTTATTTGGGTGGTCAACAATCGCCCCTTAGTGAGGGGCGCGTTGGGGTCTAATATCCTTCCACTCGGAT
TTGAAACCCGAGCGGACGGTCAGGGCTTTGTGTGGAGGGGTGGGCCCCACAACGTAAGATTTTGGGTCATATCTC
AGTTGGAGGATTCTGACTCATTGCGGTTGGAGTTCAATTATTGAAGCATTAGGGTTTGGGAGGGTTTTGATTTT
GTTTTTCAGGTGCAAATTCGGACCAAGGGTTGAACGCGAGACTAATGCACGAAAAGCAGGTTGGGTGGAGATACC
GAGGGACGAGCGAGATGGGTCTTTACGAGTGAAGTGGTGGCCGAGTTGATTAGGCAAGTGATGGTGGAGAAAGA
GGGCGAGTTAGTACGGGCAAATGCATGGGCCATGAAGGAGATATTTGGCAACGTAGAGTTGAACAAAAAGTGCT
TGGACGAGTTCACTCGGGTCCTTGAAACTTGGCCCGCTTCAACTTAA

MdUGT91AJ5 (MD02G1083100) CDS 序列

ATGCCATTTCTGGAGGTCTCCAAGTTCTTAGCTCAAAAGGGTCACCAAATCTCTTTCATCTCCACCCCCAAAAACA
TCAATCGCCTCCGATCTCTCTCTTTTCCCCGCTCATCAATTTTCGTCGAGCTTCTCTCCCCGCCGTCGACGGCTTA
CCGGAATCCGTTGAGTCCACCTCCGAGCTACCAATCAACAAAGTCCCTTACCTCAAAAAAGCATAACGACTTGCTT
AAGCCTTCAGTCACGCATTTTCATCCAACACTCGAGCGTCAACTGGGTCTGTCATGACATCATTGCTACTGGATG
CCCAGAGTCGCCACTCAGCTGGGAGTCAACTCGGTCTACTTCAACATCACCAACGCCAGTACCTTGGCTTTCTTGG
GTCTCCGACCGAGTTACTCGGCGATAAACGCAGGCGACCGGAGGACTTTACGGTCGTCCCCGAGTGGGTGCGACTA
TCCTTCCAACGTTGCTTTTAAGCAGCATGAGATGGTGAGCCACTGGGATTGCATGGACGATGAGGTCTCCGATTTT
CAGAGACTCGCGGGTTTCGATTCAAGATTGTAATTTTGTGACTATGCGGAGCTGCACCGAGTTCGAATCTGACGCG
GTGAGTTTGTCTCAGGAAGATCTACGGCAAACCCGTTGTTCCACTCGGGCTGCTTCCGCTGGCTCAGCACCACATC
AGCATGGCGTCGTAACGATCGAGGGGATGACAAGTGGGAAGTGTGAGAGAGTGGCTCGAAAGTAAGAAACCG
AACTCGGTGGTTTACATCGCCCTCGGCACCGAGGTGACTCTGAGTCAAGAGTTGATGCACGAGTTGGCACATGGG
ATAGAGAAATCCGGGTTGCCCTTTATTTGGGTGGTCAACAATCGCCCGTTGGTGGAGGGCGTGTGGGCTCCGAT
ATAATTCCACTCGGGTTTGAAACACGAGTAGAGGATCGAGGCTTGGTCTTGAGAGGTTGGGCCCCACAACCTTAAG
ATTCTAGGTCATATTTTCGATCGGAGGTTTCCTAACTCATTGTGGTTGGAGTTTCAGTTGTGCGAGGCACTAGGGTAC
GGGCGGGCTTTGATTTTGTTCGGGTGCTAATTCCGACCAAGGGTTGATCGCGAGACTAATGCACGATAAGCAG
GTCGGGTTGGAGATACCGAGGGACGAGCAAGACGGGTCTTTACGAGTGAAGTGGCCGAGTTGATTGGGCGA
GTGATGGTGGAGAAAGAAGGTGAGTCCATAAGGTCAAATGCACGGGCCATGAAGGAGATATTTGGCAATGTAGA
GTTGAACAACAAGTGCTTGGACGAGTTCACTCGGGTCCTTGAAACCTGGCCCAATAA

MdUGT91AJ6 (MD02G1083300) CDS 序列

ATGGAGAGCAAAGATCAGAAGAACTTCACATAGCCATGTTCCCATGGCTAGCCTACGGACACCTAATGCCATTT
CTGGAGGTCTCCAAGTTCTTAGCTCAAAAGGGTCACCAAATCTCTTTCATCTCCACCCCCAAAAACATCAATCGC
CTCCGATCTCTCTCTTTTCCCCGCTCATCAATTTTCGTCGAGCTTCTCTCCCCGCCGTCGACGGCTTACCGGAATC
CGTTGAGTCCACCTCCGAGCTACCAATCAACAAAGTCCCTTACCTCAAAAAAGCATAACGACTTGCTCAAGCCTTCA
GTCATGCATTTTCATCCAACACTCGAGCGTCAACTGGGTCTGTCATGACATCATTGCTACTGGATGCCAGAGTCG
CCACTCAGCTGGGAGTCAACTCGGTCTACTTCAACATCACCAACGCCAGTACCTTGGCTTTCTTGGGTCTCCGAC
CGAGTTACTCGGCGATAAACGCAGGCGACCGGAGGACTTTACGGTCGTCCCCGAGTGGGTGCGACTATCCTTCCAAC
GTTGCTTTTAAGCAGCATGAGATGGTGAGCCACTGGGATTGCATGGACGATGAGGTCTCCGATTTTTCAGAGACTC
GCGGGTTCGATTCAAGATTGTAATTTTGTGACTATGCGGAGCTGCACCGAGTTTCAATCTGACGCGGTGAGTTTG
CTCAGGAAGATCTACGGCAAACCCGTTGTTCCACTCGGGCTGCTTCCGCTGGCTCAGCACCACATCAGCATGGCG
TCGCTAACGATCGAGGGGATGACAAGTGGGAAGTGTGAGAGAGTGGCTCGAAAGTAAAGAAACCGAACTCGGT
GGTTTACATCGCCCTCGGCACCGAGAGAAATCCGGGTTGCCCTTTATTTGGGTGGTCAACAATCGCCCGTTGGTG
GAGGGCGTGTGGGCTCCGATATAATTCCACTCGGGTTTGAAACACGAGTAGAGGATCGAGGCTTGGTCTTGAGA
GGTTGGGCCCCACAACCTTAAGATTCTAGGTCATATTTTCGATCGGAGGTTTCCTAACTCATTGTGGTTGGAGTTCA
GTTGTGCGAGGCACTAGGGTACGGGCGGGCTTTGATTTTGTTCGGGTGCTAATTCCGACCAAGGGTTGATCGCG
AGACTAATGCACGATAAGCAGGTGCGGTTGGAGATACCGAGGGACGAGCAAGACGGGTGCTTTACGAGTGAAGT
GGTGGCCGAGTTGATTGGGCGAGTGATGGTGGAGAAAGAAGGTGAGTCCATAAGGTCAAATGCACGGGCCATGA
AGGAGATATTTGGCAATGTAGAGTTGAACAACAACAAGTGCTTGGACGAGTTCACTCGGGTCCTTGAAACCTGGC
CCAAATAA

MdUGT91AJ7 (MD02G1083800) CDS 序列

ATGGAAAGCAAAGATCAGAAGAACTTCAAATAGCCATGTTCCCATGGCTAGCCTACGGCCACCTAATGCCATTT
CTCGAGGTCTCCAAGTTCTTGGCTCAAAGGGTCACCAAATCTCCTTCATCTCCACCCCCAAAAACATCAATCGC
CTCCGATCCTCCTCTTTTCCCCGCTCATCGATTTCTGTCGAGCTTCCTCTCCCCGCTGTGACGGCTTACCGGAATC
CGTCGAGTCCACCTCCGAGCTACCAATCAACAAAGTCCCTTACCTCAAAAAAGCATAACGACTTGCTCAAGCCTTCA
GTCATGCATTTTCATCCAGCACTCGGGAGTCAACTGGGTCTGTCATGACTTCATTTGCTACTGGATGCCAGGGTCG
CCACTCAGCTGGGAGTCAACTCGGTCTACTTCAACATCACCAACGCCACTACCTTGGCTTTCTTCGGTCTCCTCCGTCC
GAGTTACTCGGCAATAAACGCAGGGGGCCGGAGGACTTTACGGTCTGTCCTCCGAGTGGGTGCGACTATCCTTCCAACG
TTGCTTTTAAATTGCATGAGATGGTGACCACTGGGATTGCATGGGCGACGAGGTCTCCGATTTTCAGAGACTCG
GGCGTACGATTCAAGATTGTAATTTTGTGACTATGCGGAGCTGCACCGAGTTTGAATCTGACGCAGTGAGTCTGC
TCAGGAAGATCTACGGCAAACAGTTGTTCCACTCGGGCTGCTGCCGCCGGTCTCAGCGCCGCAACAGCACGGCGT
CGCTGACGATCGAGGGGATGAGACGTGGGAAGTGCTGAGAGGTTGGCTCGAAAATAAGAAACCGAACTCGGTGGT
TTACATCGCCCTCGGCACCGAGGTGACTCTGAGTCAAGAGTTGATGCACGAGTTGGCACATGGGATGGAGAAATCC
GGGTTGCTTTTATTTGGGTGGTCAACAATCGCCCGTTAGTGGAAGGCTTGTTGGGCTCCGATATAATTCCACTCG
GATTTGAAACCCGAGTAGAGAATCGAGGCTTGGTCTTGAGAGGTTGGGCTCCACAACCTAATATTCTAGGTCATA
TCTCGGTTGGGGTTTTCCTTACCCATTGTGGTTGGAGTTCAGTTGTGCGAGGCACTAGGGTACGGGCGGGCTTTGAT
TTTGTTCAGGTGCTAATTCAGACCAAGGGTTAATCTCTAGACTAATGCACGATAAGCGGGTTGGGTGGAGAT
ACCGAGGGACGAGCAAGATGGGTCTGTTACGAGTGACTCGGTGGCCGAGTTGACAAGGCGAGTGATGGTGGAGAA
AGAAGGTGAGTCCATAAGGTCAAATGCATGGGCCATGAAGGAGATATTTGGCAACGTAGAGTTGAACAACAAGT
GCTTGATGAGTTCACTGGGGTCTTGAAACTTGCCCCACTTCCTCCTAG

MdUGT91C7 (MD08G1200700) CDS 序列

TGGACACAGGTCAATCTCCATGGACAACCAGAACACTCAGAGTGAGGCCAAGGAGGAGGAGGCGGAGGAGCTG
TTCTTCACGTGGTGGTGTTCATGGCTGGCCATGGGCCACCTCATCCCCCTTCTTCCACCTTTCCACCCCTCATAGCT
CAAAGGGGTCACACCGTCTCCTTCGTCTCCACCCCAAGGAACCTCTCCAGACTTCCCAAAATACCTTCCACCTCTC
CTCCCTCGTCAACCTCGTCTCCTTCCCTCTCCCCCGCTCCCTAACCTCCCAAACGACGCCGAATCATCAACCGACGT
CCCCTTCCACAAGCAGCAACTACTCAAAACGGCCTTCGACATGCTACAAACCCCGCTGACCGCTTTCTTGAGTGCT
CAAGACCCGACTGGGTATTTACGACTATGCCCCCTACTGGCTTCCCGCCATAGCCGCCAGGCTCGGCGTTCGCACAC
GCCTTCTTTTCTGTGTCAACGCCGCTGCCTGGCCTACCTCGGTCCGCCGTCGGTTCTGATCAGCGGCCAGGATGG
GAGGACCAAGGCCGAGGATTTACGGTGGTCCCCAAGTGGGTCCCGTTCGAGTCCGACATGGCATATCGGCTCCAC
GAGGTTGCCAAGTGGGTGCAAGCATCAAGCGGGAACGAGTCCGGCACTCCCGATACGGTTCGTTTGGGGTTGCG
ATTGAGGAGAGCGACGTTGTGTTTGTAGAAGCTCTGACGAGTTTGAGCCGAGTGGTAAATTTGGTGAGAGA
GCTTTACCGCGAGGTAAGAAAGTAAACCCGTTGTTCCGGTTGGATTTTTTACCGCCTAACATAGAAGAGGAGGCAAG
TGAATTTGATGAAACATGGGGTGGCATTAAAGGGTGGTTGGACAAGCAACGAGTCAACTCGGTGGTTTACATTG
CACTCGGGACCGAAGCGACACTGAGTCAGGAGGAACCTACCGAGCTGGCTCTCGGGTTGGAGCTGTCCGGGGTACC
CTTCTTTTGGGTGTTGAGAAACCCGCCGAGTCGACTCAGTCAGTGCTGAGATGCTTCTCCAGGGTTTTTGGAA
CGAGTCAAGGGTCGAGGTGTGGTGGACTTGGGGTGGGCTCCGCAGGTGCGCATACTGAGTCATGACTCGGTGGGG
GGATTCTTGACTCACTGCGGTTGGAACCTCAATGATCGAAGGGCTCATGTTTCGGACGGGTTTTGATGTTTTTCCG
ATGGTGAACGACCAAGGGCTTAATGCTCGATTGGGGAATGGAAAGGGGCTCGGGGTGGAAATACCTAGGAACGA
ACGAGATGGGTCTTTACTCGTGACTCGGTGGCTGAGTTTGTAAAGTTGGCAATGGTGGACGACTCGGGTGAATC
GATGAGGATAAGGGCCAAGGAAATGAAGATTGTTTGGAGACAGAAATAAGAACAATCGAATAGTGGGTGAA
TTCATATGTTTTCTCGAAGAGAACAGGCCACCGAGGTGTCCAGAATAA

表 S2 8 个糖基转移酶基因的氨基酸序列

Tab. S2 The amino acid sequences of 8 glycosyltransferase genes

MdUGT91AJ1 (MD02G1083600) 氨基酸序列

MESKDQKKLHIAMFPWLAYGHLMSFLEVSKFLAQKGHQISFISTPKNINRFRSSSLSPIDFIELPLPAVDGLPESAEFRA
TNQQITHFIQHSGVNWVVDVICYWLPRVATQLGVNSVFFSVTNATTLAFFGPPSELLSDKLRRPEDFTVVPWVDYP
SNVAFKLHEMVSHWDCMEDEVSDFQRAARAIQDCNFVTMRSCTEFESDAVSLKKIYGKPIVPLGLLPPDSAPHQHGV
ADDRWDEKWEVLREWLENKKPNSVYIAFGTEVTPSQELMHELAHGIEKSGLPFIWVNNRPLVEGVVLGADIIPPGFQ
TRVEDRGLVWRGWAPQLKILDHASVGGFLTHCGWSSVVEALRFLVLILFSGAYSQPLNARLMHDKRVGLEIPRDE
RDGSFTSDSVAELIRRMVEKEGESIRSNAWAMKEIFGNVELNKQCFDEFNRVLETWPIPPSQ

MdUGT91AJ2 (MD02G1084000) 氨基酸序列

MESKDQKKLHIAMFPWLALQRWGAYGHLMSFLEVSKFLAQKGHRISFISTPKNINRLRSSFSPLIDFVELPLPAVDGL
PESAESTSELPINKVPYLKKAYDLLKPSVTHFIEHSGVNWIVHDFICYWVPRVATQLGVNSVYFSVTNANSLVFIGSPS
ELLSNKRRRPEDFTVVPEWVDYPSNVAFKLHEMVTHWDCMDDEVSDFQRLAGAIQDCNFVTMRSCTEFESDAVSLLR
KIYGKPVVPLGMLPPVSAPHQHGVADDRGDETWEVLRGWLENKKPNSVVYIAFGTEVTPSLELMHELAHGIEKSGLP
FIWVNNRPLVEGVLGADIIPPGFQTRVEDRGLVWRGWAPQLKILAHASIGGFLTHCGWSSVVEALRFGRVLILFSGA
YSDQPLNARLMHDKRVGLEIPRDEQDGSFTSDSVAELIRRMVEKEGESIRSNAWAMKEIFGNVELNNRCLDEFTRTL
ETWPTST

MdUGT91AJ3 (MD15G1211400) 氨基酸序列

MERKDEKKLHIAMFPWLAYGHLMPFLEVSKFLAQKGHQISFISTPQNINRLRSSLSLLIDFVELPLPAVDGLPESVEST
SQLPINKVPYLKKAYDLLKPAVTHFVQHSGVNWVVHDFICYWLPQVATQLGVNSVFFSIINATSLAFGGPPSELLGDK
RRRPEDFTVVPEWFDYDYPSTVAYKLHEMVSHWDCMDDNVSDFQRLAVTVQDCNFVTIRSCTEVESDAVSLLRNLYGK
PVVPLGGLPTSSAPHQPGGTNDGADEKWEVLREWLENKKPNSVVYIALGTEVTLSELMHELAHGIEKSGLPFIWV
NNRPLVEDALGSNILPLGFETRVDGRGFVWRGWAPQRKILGHISVGGFLTHCGWSSIIEALGFGRVLILFSGANSQGLN
SRLMHEKQVGLEIPRDERDGSFTSDSVAELIRRMVEKEGELVRANARAMKEIFGNVELNKKCLDEFTRVLETWPAST

MdUGT91AJ4 (MD10G1101200) 氨基酸序列

MERKDEKKLHIAMFPWLAYGHLMPFLEVSKFLAQKGHQISFISTPQNINRLRSSLSLLIDFVELPLPAVDGLPESVEST
SQLPINKVPYLKKAYELLKPAVTHFVQHSGVNWVVHDFICYWLPVAVATQLGVNSVFFSIINATSLAFGGPPSELLGDK
RRRPEDFTVVPEWFDYDYPSTVAYKLHEMVSHWDCMDDNVSDFQRLAVTVQDCNFVTIRSCTEVESDAVSLLRNLYGK
PVVPLGGLPTSSAPHQPSGANDGADEKWEVLREWLENKKPNSVVYIALGTEVTLSELMHELAHGIEKSGLPFIWV
NNRPLVEGALGSNILPLGFETRADGQGFVWRGWAPQRKILGHISVGGFLTHCGWSSIIEALGFGRVLILFSGANSQGLN
ARLMHEKQVGLEIPRDERDGSFTSDSVAELIRQVMVEKEGELVRANAWAMKEIFGNVELNKKCLDEFTRVLETWPAST

MdUGT91AJ5 (MD02G1083100) 氨基酸序列

MPFLEVSKFLAQKGHQISFISTPKNINRLRSSFSPLINFVELPLPAVDGLPESVESTSELPINKVPYLKKAYDLLKPSVTH
FIQHSSVNWVVHDIICYWMPRVATQLGVNSVYFNITNASTLAFLGPPTTELLGDKRRRPEDFTVVPEWVDYPSNVAFKQ
HEMVSHWDCMDDEVSDFQRLAGSIQDCNFVTMRSCTEFESDAVSLLRKIYGKPVVPLGGLPPGSAPHQHGVANDRGD
DKWEVLREWLESKKPNSVVYIALGTEVTLSELMHELAHGIEKSGLPFIWVNNRPLVEGVLGSDIPLGFETRVEDRG
LVLRGWAPQLKILGHISIGGFLTHCGWSSVVEALGYGRALILFSGANSQGLIARLMHDKQVGLEIPRDEQDGSFTSDS
VAELIGRMVEKEGESIRSNAWAMKEIFGNVELNKKCLDEFTRVLETWPK

MdUGT91AJ6 (MD02G1083300) 氨基酸序列

MESKDQKKLHIAMFPWLAYGHLMPFLEVSKFLAQKGHQISFISTPKNINRLRSSFSPLINFVELPLPAVDGLPESVEST
SELPINKVPYLKKAYDLLKPSVMHFIQHSSVNWVVHDIICYWMPRVATQLGVNSVYFNITNASTLAFLGPPTTELLGDK
RRRPEDFTVVPEWVDYPSNVAFKQHEMVSHWDCMDDEVSDFQRLAGSIQDCNFVTMRSCTEFESDAVSLLRKIYGK
VVPLGGLPPGSAPHQHGVANDRGDDKWEVLREWLESKETELGGLHRPRHREKSGLPFIWVNNRPLVEGVLGSDIPL
GFETRVEDRGLVLRGWAPQLKILGHISIGGFLTHCGWSSVVEALGYGRALILFSGANSQGLIARLMHDKQVGLEIPR
EQDGSFTSDSVAELIGRMVEKEGESIRSNAWAMKEIFGNVELNKKCLDEFTRVLETWPK

MdUGT91AJ7 (MD02G1083800) 氨基酸序列

MESKDQKKLQIAMFPWLAYGHLMPFLEVSKFLAQKGHQISFISTPKNINRLRSSFSPLIDFVELPLPAVDGLPESVEST
ELPINKVPYLKKAYDLLKPSVMHFIQHSGVNWVVHDFICYWMPRVATQLGVNSVYFNITNASTLAFFGPPSELLGNK
RRGPEDFTVVPEWVDYPSNVAFKLHEMVTHWDCMGDEVSDFQRLGRTIQDCNFVTMRSCTEFESDAVSLLRKIYGK
VVPLGGLPPVSAPQQHGVADDRGDETWEVLRGWLENKKPNSVVYIALGTEVTLSELMHELAHGMEKSGLPFIWV
NNRPLVEGLLGSDIPLGFETRVENRGLVLRGWAPQLNILGHISVGGFLTHCGWSSVVEALGYGRALILFSGANSQGLI
SRLMHDKRVGLEIPRDEQDGSFTSDSVAELTRRMVEKEGESIRSNAWAMKEIFGNVELNKKCLDEFTGVLETWPTSS

MdUGT91C7 (MD08G1200700) 氨基酸序列

MDNQNTQSGGQGGGGGAVLHVVPFWLAMGHLIPFFHLSTLIAQRGHTVSFVSTPRNLSRLPKIPSHLSSLVNLVSF
PLPRLPNLPNDAESSTDVPFHKQQLKTAFDMLQTPLTAFLESSRPDWVIYDYAPHWLPAAIARLGVAHAFFFCVNA
ACLAYLGPPSVLISGQDGRKTAEDFTVVPKWPVFESDMAYRLHEVAKWVQASSGNESGTPDTRVRFVAVIEESDVV
RSSDEFEPWLNVLVRELYREVKVKPVVPVGFLLPNIEEEASEFDETWGGIKGWLDKQRVNSVVYIALGTEATLSQEEL
TELALGLELSGVPPFFVWLRNPPESTQSVSEMLPPGFLERVKGRGVVDLGWAPQVRILSHDSVGGFLTHCGWNSMIEG
LMFGRVLMFFPMVNDQGLNARLGNGKGLGVEIPRNERDGSFTRDSVAEFVRLAMVDDSGESMRIRAKEMKDLFGDRN
KNNRIVGEFICFLEENRPPRCPE

(责任编辑:刘庆松)