

苦瓜 *MAP30* 基因克隆与单倍型分析*

刘子记¹, 申龙斌¹, 朱 婕², 牛 玉¹, 杨 衍^{1**}

(1. 中国热带农业科学院 热带作物品种资源研究所/农业部华南作物基因资源与种质创制重点开放实验室,

海南 儋州 571737; 2. 海南大学 热带农林学院, 海南 海口 570228)

摘要:【目的】以揭示苦瓜 *MAP30* 完整基因结构及单倍型为目的, 为研究 *MAP30* 基因表达调控机制提供参考。【方法】以 34 份苦瓜初级核心种质为材料, 参考苦瓜基因组序列, 克隆 *MAP30* 基因, 利用多种生物信息学软件分析苦瓜 *MAP30* 完整基因结构及单倍型。【结果】苦瓜 *MAP30* 基因全长 920 bp, 包括 52 bp 的 5'-UTR, 7 bp 的 3'-UTR, 861 bp 的 ORF, 无内含子序列, 编码 286 个氨基酸。系统进化分析表明: *MAP30* 蛋白与葫芦科其他植物的 *RIPs* 蛋白亲缘关系较远, *MAP30* 蛋白在苦瓜属植物中保守性较强。通过比较 34 份苦瓜种质资源 *MAP30* 基因序列, 共发现 6 个 SNP 位点, 第 1 个 SNP 位于 5'-UTR 区, 其余 5 个 SNP 位于编码区。SNP 分组发现: 34 份苦瓜种质资源 *MAP30* 基因共存在 3 种单倍型。3 种单倍型编码的氨基酸序列比对显示: 共存在 3 个氨基酸变异位点, 分别是第 2 位 M/V、第 69 位 R/H、第 74 位 N/D, 3 个氨基酸变异位点分别对应于第 2、3、4 SNP 位点, 第 5、6 SNP 位点并未引起氨基酸的改变。【结论】本研究克隆了 *MAP30* 完整基因结构并分析了 *MAP30* 蛋白与葫芦科其他植物的 *RIPs* 蛋白的亲缘关系, 另外分析了不同苦瓜种质 *MAP30* 基因 SNP 分布情况及单倍型种类。

关键词: 苦瓜; *MAP30*; 抗病毒; 单倍型

中图分类号: S 642.503.2

文献标识码: A

文章编号: 1004-390X (2018) 02-0272-07

The Cloning and Haplotype Analysis of *MAP30* Gene from Bitter Gourd

LIU Ziji¹, SHEN Longbin¹, ZHU Jie², NIU Yu¹, YANG Yan¹

(1. Tropical Crops Genetic Resources Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement in Southern China, Ministry of Agriculture, Danzhou 571737, China; 2. Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: [Purpose] The aim of this study was to reveal the complete gene structure and haplotypes of *MAP30* in bitter gourd, expected to provide reference for studying the regulation mechanism of *MAP30* gene expression. [Method] Taking the primary core collection of bitter gourd as material, the *MAP30* gene was cloned through referring to the genome sequence of bitter gourd, the complete gene structure and haplotypes of *MAP30* were analyzed through adopting bioinformatic softwares. [Results] The *MAP30* gene was 920 bp in length, including 52 bp 5'-UTR, 7 bp 3'-UTR and 861 bp ORF, with no intron, encoding 286 amino acids. Phylogenetic analysis showed that the

收稿日期: 2017-06-21

修回日期: 2017-10-11

网络出版时间: 2018-04-03

*基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目 (1630032014019, 1630032016019); 国家自然科学基金资助项目 (31601758)。

作者简介: 刘子记 (1982—), 男, 山东菏泽人, 博士, 副研究员, 主要从事蔬菜分子生物学及遗传育种研究。

E-mail: liuziji1982@163.com

**通信作者 Corresponding author: 杨衍 (1971—), 男, 湖南澧县人, 博士, 研究员, 主要从事蔬菜遗传育种研究。

E-mail: catusvegetable@126.com

网络出版地址: [http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).201706039](http://dx.doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).201706039)

MAP30 protein was far from the RIPs protein of other plants of Cucurbitaceae family, so the MAP30 protein was highly conserved in the momordica genus. 6 SNP loci were found through comparing the MAP30 gene sequences of 34 bitter gourd germplasm, the 1st SNP was located in the region of the 5'-UTR, and the remaining 5 SNPs were located in the coding region. There were 3 haplotypes of MAP30 gene in 34 bitter gourd germplasm through SNP grouping. Three amino acid mutations were found according to comparing the amino acid sequences encoded by the 3 haplotypes. They were M/V in the 2nd loci, R/H in the 69th, and N/D in the 74th, respectively, which were corresponding to the 2nd, 3rd and 4th SNP loci, the 5th and 6th SNP loci did not cause amino acid changes. [**Conclusion**] The complete gene structure of MAP30 had been cloned, and the relationship between MAP30 protein and RIPs of other cucurbit plants had been analyzed. In addition, the SNPs distribution and haplotype types of MAP30 gene in different bitter gourd germplasm had also been analyzed.

Keywords: bitter gourd; MAP30; antiviral; haplotype

苦瓜 (*Momordica charantia* L.) 属于葫芦科 (Cucurbitaceae) 苦瓜属一年生蔓生草本植物。苦瓜不仅营养成分丰富, 其所含的药理活性成分具有抗肿瘤^[1]、消炎^[2]、提高人体免疫力^[3]和降血糖^[4]等多种功效。核糖体失活蛋白 (ribosome-inactivating protein, RIP) 广泛存在于植物中, 具有破坏核糖体抑制蛋白质生物合成的功能。LEE-HUANG 等^[5]从苦瓜种子和果实中分离到一种分子量为 30 ku 的 I 型核糖体失活蛋白 MAP30 (*Momordica anti-HIV protein of 30 ku*)。MAP30 蛋白具有抑制 HIV、HSV、HBV 等病毒的活性^[6-8], 针对病毒感染细胞及病毒本身均可作为攻击靶点, 且对正常细胞无明显毒性, 这决定了 MAP30 蛋白抗病毒的广谱性。另外, MAP30 蛋白还具有抗生育、抗肿瘤等药理活性^[9]。

以往研究者多采用 MAP30 编码序列构建载体重组表达 MAP30 蛋白, 进而研究其生物活性。林育泉等^[10]采用大肠杆菌表达系统表达 MAP30 并验证了其对肿瘤细胞株的抑制作用。樊剑鸣等^[11]将苦瓜 MAP30 基因转化到大肠杆菌, 表达的 MAP30 蛋白能抑制镰刀菌的生长。樊剑鸣等^[12]研究表明: 在毕赤酵母中表达的苦瓜 MAP30 蛋白能够诱发胃腺癌细胞的凋亡。FAN 等^[13]研究表明: 重组 MAP30 蛋白能够有效抑制肝炎病毒。朱振洪等^[14]研究证明: 重组 MAP30 蛋白对人胃癌细胞具有明显抑制作用。张黎黎等^[15]成功地构建了 MAP30 表达系统, 并实现了可溶性表达, 可用于抗体-毒素肿瘤靶向药物合成。韩晓红等^[16]研究表明: 重组 MAP30 蛋白可以诱导人

食管癌细胞株凋亡。邱华丽等^[17]的研究结果证实重组 MAP30 蛋白可诱导乳腺癌细胞凋亡。王美娜等^[18]成功表达了可溶性重组蛋白 MAP30, 并证明有很好的抑菌活性。有关 MAP30 基因结构和单倍型的研究鲜有报道。本研究拟通过 NCBI 数据库获得 MAP30 基因编码序列, 通过与苦瓜基因组序列进行比对寻找目标区域, 在目标区域两侧设计引物, 获取完成的 MAP30 基因序列, 分析基因结构及编码蛋白结构; 通过同源比对构建系统进化树, 分析 MAP30 蛋白与其他 RIPs 蛋白的亲缘关系; 比较不同苦瓜种质资源 MAP30 基因序列, 分析 MAP30 基因单倍型, 并对不同单倍型编码的蛋白质序列进行分析, 以期为研究 MAP30 基因表达调控机制和不同单倍型编码蛋白功能差异提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试苦瓜材料共 34 份, 来源于苦瓜初级核心种质库^[19], 材料来源见表 1。试验于 2016 年 9 月初在中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所试验基地进行, 将供试苦瓜种子用 50 ℃ 温水处理 30 min, 常温浸种 12 h 后, 播种于营养钵中, 按照常规方法管理。待苦瓜长至 3 叶 1 心时, 摘取叶片贮于 -20 ℃ 冰箱备用。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取

采用改良的 CTAB 法^[20]提取待测苦瓜材料的基因组 DNA。

表 1 供试苦瓜材料

Tab. 1 The test materials of bitter gourd

种质编号 No.	来源 origin	种质编号 No.	来源 origin
Y5、Y7、Y16	日本 Japan	Y108	湖南 Hunan
Y39、Y43、Y50	广东 Guangdong	Y112、Y113、Y115、Y121	广西 Guangxi
Y58	江西 Jiangxi	Y122、Y124、Y131、Y134、Y139	福建 Fujian
Y60、Y66、Y69、Y72、Y77	海南 Hainan	Y140、Y141、Y144	斯里兰卡 Sri Lanka
Y83、Y85、Y87、Y90	泰国 Thailand	Y146、Y147、Y153	印度 India
Y96、Y100	云南 Yunnan		

1.2.2 MAP30 基因克隆

根据 GenBank MAP30 编码序列 S79450 比对苦瓜基因组序列^[21], 确定 MAP30 基因所在的区间, 为了获得完整的 MAP30 基因组序列, 利用软件 Primer 5.0 在编码序列的两侧设计引物(表 2), 共设计 3 对引物 MAP30TD1、MAP30TD2 和 MAP30TD3, 首先对 3 对引物组合分别进行 PCR 扩增, 选择扩增条带清晰, 目标条带单一的引物组合获取编码序列在内的 1 kb 左右的序列, 采用离心柱型琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒 (Omega Gel Extraction Kit, 美国) 回收目的条带, 将目的条带连接到北京全式金生物技术有限

公司的 pEASY-T5 载体上, 转化感受态细胞 Trans1-T1, 筛选出阳性克隆, 委托广州英韦创津生物科技有限公司测序。

PCR 反应体系为 20 μ L, 其中包括 12 μ L Premix TaqTM(宝生物工程有限公司), 1 μ mol/L 引物, 150 ng 模板 DNA。扩增程序为 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 55 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1.5 min, 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 终延伸 10 min; PCR 产物保存于 10 $^{\circ}$ C。20 μ L 扩增产物与 3 μ L 上样缓冲液, 2 μ L UltraPower DNA 染料混合经 1.5% 琼脂糖凝胶于 110 V 电泳 30 min, 显色进行带型统计。

表 2 扩增苦瓜 MAP30 基因引物序列

Tab. 2 The primers used for amplifying MAP30 gene

引物名称 primer name	正向引物序列 (5'→3') forward primer sequence	反向引物序列 (5'→3') reverse primer sequence
MAP30TD1	GCAAAGAACTACGGT	CGATATGGGTGGATTA
MAP30TD2	TCGAATCATCAAATT	ACATGAACATGCCTTA
MAP30TD3	TATTTTACTATCTATAATTAA	TATTCATAAATAAAAAAAGACA

1.2.3 MAP30 基因生物信息学分析

利用在线软件 FGESH (<http://linux1.softberry.com/berry.phtml?topic=fgenesh&group=programs&subgroup=gfind>) 分析 MAP30 基因结构。利用在线软件 ProtParam、ProtScale、SignalP 4.1、TMHMM、JPRED 4、PSIPRED、InterPro 分析 MAP30 基因编码蛋白的氨基酸序列、亲疏水性、信号肽、跨膜结构等。根据 MAP30 蛋白序列在线进行 BLASTP 同源性搜索, 获得与 MAP30 相似度较高的其他物种的蛋白序列, 采用 MEGA 6.06 软件基于邻近相连法绘制系统进化树, 并进行 Bootstrap 检测, 系统树分支的置信度, 采用重复抽样分析方法, 重复抽样次数为 1 000 次。

1.2.4 MAP30 基因单倍型分析

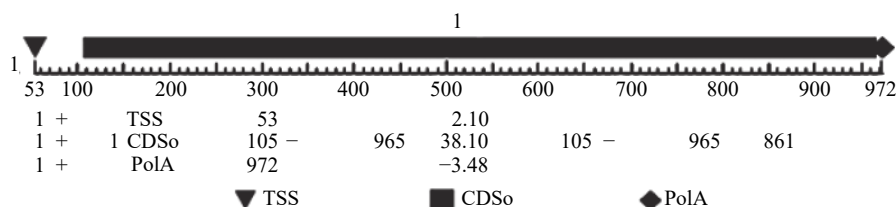
以不同苦瓜材料基因组 DNA 作为模板, 以

MAP30TD1、MAP30TD2 和 MAP30TD3 为引物进行初步筛选, 选择能够在 34 份苦瓜材料中成功扩增的引物组合 MAP30TD3 进行后续研究, 回收目的片段进行连接、转化和测序, 采用 BioEdit 软件进行多序列比对、分组, 分析 MAP30 基因单倍型。

2 结果与分析

2.1 MAP30 基因全长的克隆

采用 MAP30TD3 引物组合对 Y5 苦瓜材料进行 PCR 扩增, 目的片段经回收、连接、转化、测序, 共获得 1 030 bp 的序列, 序列经 FGESH 基因结构分析表明: MAP30 基因全长 920 bp (图 1、2), 5'-UTR 长 52 bp, 3'-UTR 长 7 bp, ORF 长 861 bp, 无内含子序列。



注: TSS. 转录起始位点; CDS. 编码序列; PolA. 多聚腺苷酸。

Note: TSS. transcription start site; CDS. coding sequence; PolA. polyadenylation.

图1 MAP30 基因结构

Fig. 1 The gene structure of MAP30

>MAP30 gene sequence

```
CTATAAATACCATGATTGAGATACTCATATTCGAACTCATCAAATTAGAAAAATGATGAAATGCTTACTACT
TTCTTTTTTAATTATCGCCATCTTCATTGGTGTCTTACTGCCAAAGGCGATGTTAACTTCGATTGTGCGAC
TGCCACTGCAAAAACCTACACAAAATTTATCGAAGATTTACGGGCGACTCTTCCATTTAGCCATAAAGTG
TATGATATACCTCTACTGTATTCCACTATTTCCGACTCCAGACGTTTCATACTCCTCAATCTCACAAGTTAT
GCATATGAAACCATCTCGGTGGCCATAGATGTGACGAACGTTTATGTTGTGGCCTATCGACCCGCGATGT
ATCTACTTTTTTAAAGAATCTCTCTGAAGCTTATAACATCCTATTCAAAGGTACGCGGAAAATTACAC
TGCCATATACCGGTAATTATGAAAATCTCAAACCTGCTGCACAAAATAAGAGAGAAATATTGATCTTGGA
CTCCCTGCCTTGAGTAGTGCCATTACCACATTGTTTATTACAATGCCAACTCTGCTCCTTCTGCATTGCTT
GTACTAATCCAGACGACTGCAGAAAGCTGCAAGATTTAAGTATATCGAGCGACACGTTGCTAAGTATGTTG
CCACTAACTTTAAGCCAAATCTAGCCATCATAAGCTTGGAATCAATGGTCTGCTCTCCTCCAAACAAATA
TTTTTGGCGCAGAATCAAGGAGGAAAATTTAGAAATCCTGTCGACCTTATAAACCTACCGGGGAACGG
TTTCAAGTAACCAATGTTGATTGATGTTGTAAGGTAATATCAAACCTGCTGCTGAATCCAGAGCTA
GCACTGCTGATGAAAACCTTTATCACAACCATGACTCTACTTGGGGAATCTGTTGTGAATGAAAGTTTA
```

注: ATG. 起始密码子; TGA. 终止密码子。

Note: ATG. initiation codon; TGA. termination codon.

图2 MAP30 基因序列

Fig. 2 The gene sequence of MAP30

2.2 MAP30 基因编码氨基酸序列的生物信息学分析

FGENESH 分析结果表明: MAP30 基因编码 286 个氨基酸。ProtParam 软件分析表明: MAP30 蛋白分子式为 $C_{1468}H_{2306}N_{372}O_{423}S_4$, 氮端为 Met, 相对分子量 32 ku, 理论等电点 pI 为 9.08, 负电荷残基 (Asp+Glu) 为 24 个, 正电荷残基 (Arg+Lys) 为 29 个, 脂肪系数为 101.99, 总平均亲水性为 0.076, 不稳定指数为 29.49, 属于稳定蛋白, 半衰期大于 10 h。经 ProtScale 软件分析, 4 个高分值峰 (Scale>1.0), 分别分布在 5~18、83~93、150~157、171~177 等区域, 属于高疏水性区域, 13 个低分值峰 (Scale<0), 分别分布在 21~27、32~46、51~55、64~67、97~115、121~147、162~168、180~202、210~216、225~236、238~249、251~255、266~274 等区域, 属于高亲水区域, 推测该蛋白为亲水性蛋白。SignalP 4.1 分析发现: MAP30 具有信号肽, 属于分泌蛋白, 切割位点位于第 23 和 24 氨基酸之间。采用 TargetP 1.1 对 MAP30 蛋白进行亚细胞定位预测, 结果显

示: MAP30 蛋白定位在分泌路径 (SP 值为 0.941)。TMHMM 程序分析发现: MAP30 蛋白不含跨膜结构域。结合 JPRED4 和 PSIPRED 预测 MAP30 蛋白二级结构显示: MAP30 蛋白包含有 13 处 α -螺旋, 12 处 β -折叠, 7 处 β -转角。该氨基酸序列 24~263 区间具有核糖体失活蛋白结构域。经 UniProtKB 分析, MAP30 存在 4 个 RNA N-糖苷酶活性位点, 分别位于第 93、132、181 和 184 位点。

2.3 MAP30 蛋白系统进化树分析

MAP30 (Y5) 蛋白质序列经 NCBI 数据库比对结果表明: 与苦瓜 RIP AAB35194.2 的相似性为 99%, 与胶苦瓜 (*Momordica balsamina*) 的 RIP (P29339.1) 相似性为 99%, 与南瓜 (*Cucurbita moschata*) RIP (3BWH_A) 相似性为 64%, 与栝楼 (*Trichosanthes kirilowii*) karasurin RIP (P24478.2) 相似性为 60%, 与栝楼 trichomislin RIP (AAS92579.1) 相似性为 61%, 与栝楼天花粉蛋白 (TCS) (AAA34206.1) 的相似性为 61%, 与蛇瓜 (*Trichosanthes anguina*) Trichoanguin RIP (P56626.2) 的相

似性为 56%，与栝楼 *Trichobakin* RIP (BAA92530.1) 的相似性为 62%，与异株泻根 (*Bryonia dioica*) RIP (P33185.3) 的相似性为 58%。

利用 MEGA 6.06 软件，将 MAP30 (Y5) 蛋白与其他 9 种 RIP 蛋白进行系统发育树构建 (图 3)。结果表明：苦瓜 MAP30 (Y5) 蛋白与苦瓜 (AAB35194.2)、胶苦瓜 (P29339.1) 聚为一组，亲缘关系最近，分化时间较晚。栝楼 P24478.2、

BAA92530.1、AAA34206.1、AAS92579.1 四种 RIP 蛋白聚为 1 组，可能由种内基因重复产生。蛇瓜 (P56626.2)、南瓜 (3BWH_A)、异株泻根 (P33185.3) 的分化时间较早，与 MAP30 (Y5) 蛋白的亲缘关系较远，亲缘关系的远近可能与对应蛋白质功能的相似性有关。该进化关系分析表明：苦瓜 MAP30 蛋白在苦瓜属植物中保守型较强，而与葫芦科其他植物 RIP 蛋白相比，保守性较差。

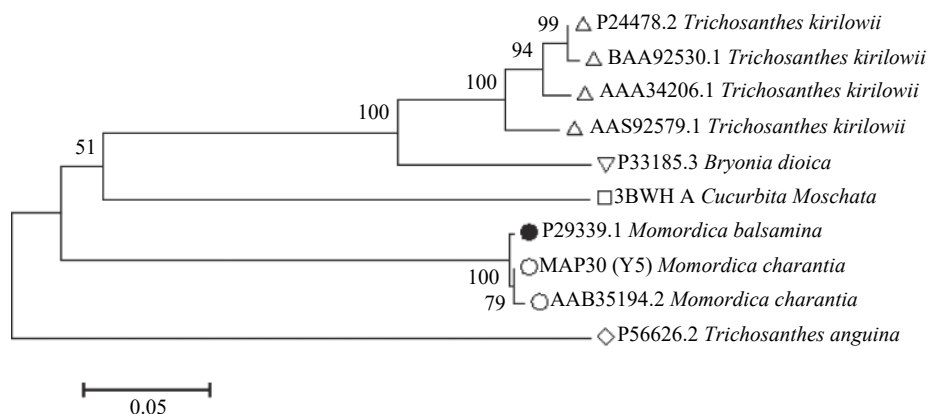


图 3 苦瓜 MAP30 (Y5) 与其他物种 RIP 蛋白的系统进化分析

Fig. 3 Phylogenetic relationship among MAP30 (Y5) and RIP proteins from other plants

2.4 MAP30 基因单倍型分析

以 MAP30TD3 为引物，以其余 33 份苦瓜种质基因组 DNA 为模板进行扩增，回收目的片段进行测序，以 MAP30 (Y5) 为参考序列进行比对，共发现 6 个 SNP 位点，分别是+33 位点的 G/A，+56 位点的 A/G，+258 位点的 G/A，+272 位点的 A/G，+340 位点的 C/G，+712 位点的 A/C，第 1 个 SNP 位于 5'-UTR 区，其余 5 个 SNP 位于编码区 (图 4)。通过 SNP 分组发现：34 份苦瓜种质资源 MAP30 基因共存在 3 种单倍型。其中 Y5、Y7、Y16、Y39、Y58、Y60、Y66、Y77、Y83、Y96、Y100、Y112、Y121、Y122、Y134 属于第 1 组；Y43、Y50、Y90、Y108、Y113、Y115、Y140、Y141、Y144 属于第 2 组，第 3 组存在 1 个 SNP 位点，+258 位点的 G/A；Y69、Y72、Y85、Y87、Y124、Y131、Y139、Y146、Y147、Y153 属于第 3 组，第 3 组共包括 5 个 SNP 位点，分别是+33 位点的 G/A，+56 位点的 A/G，+272 位点的 A/G，+340 位点的 C/G，+712 位点的 A/C。

以 MAP30 (Y5) 编码的蛋白质序列为参考，对 3 种单倍型编码的蛋白质进行比对显示：共存

在 3 个氨基酸变异位点，分别是第 2 位 M/V、第 69 位 R/H、第 74 位 N/D (图 5)，3 个氨基酸变异位点分别对应于第 2、3、4 SNP 位点，第 5、6 SNP 位点并未引起氨基酸的改变。

3 讨论

苦瓜在医药、保健食品、食品加工等方面都有非常广阔的应用前景，得到了许多国家的高度重视。在中国，随着人们生活水平的提高，全民健康意识逐步加强，苦瓜作为一种优质的药食兼用的植物资源得到越来越多的认可^[22]。

MAP30 是从苦瓜果实和种子中分离纯化得到的一种单链、I 型核糖体失活蛋白，在体外具有 RNA N-糖苷酶活性，可作用于 28S rRNA 使核糖体因不能结合延伸因子而终止蛋白质的翻译^[23-24]。MAP30 不但具有抗肿瘤、抗菌、抗病毒等多种生物学活性，而且 MAP30 可以特异地抑制受病毒感染的细胞和肿瘤转化细胞，诱导凋亡，对正常细胞无毒副作用，临床应用价值显著^[25-26]。为了进一步明确 MAP30 基因结构，本试验从苦瓜中克隆出全长 MAP30 基因序列，包括

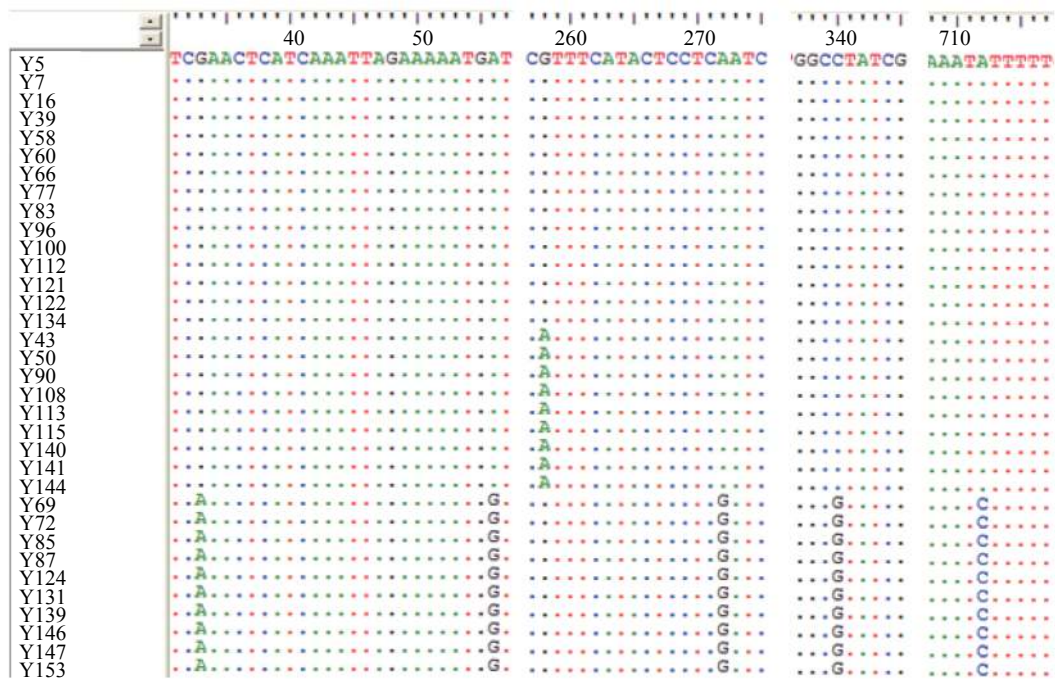


图 4 不同苦瓜种质 *MAP30* 基因 SNP 分布情况

Fig. 4 The SNP distribution of *MAP30* gene in bitter melon germplasm



图 5 不同 *MAP30* 基因单倍型编码蛋白质情况

Fig. 5 The protein sequence of *MAP30* with different haplotypes

52 bp 的 5'-UTR, 7 bp 的 3'-UTR, 861 bp 的 ORF, 以往研究多集中在编码序列, 本研究获取的 *MAP30* 基因 5'-UTR 和 3'-UTR 区可为研究 *MAP30* 基因的表达调控奠定基础。蛋白结构分析发现 *MAP30* 蛋白存在核糖体失活蛋白结构域和 4 个 RNA N-糖苷酶活性位点, 进一步证明该蛋白属于核糖体失活蛋白。

将 *MAP30* (Y5) 蛋白与其他 9 种 RIP 蛋白进行系统进化分析。结果表明: 苦瓜 *MAP30* (Y5) 蛋白与苦瓜 AAB35194.2、胶苦瓜 P29339.1 核糖体失活蛋白聚为一组, 亲缘关系最近, 分化时间较晚。其中苦瓜 AAB35194.2 为已报到的 *MAP30* 蛋白序列^[5], *MAP30* (Y5) 与 AAB35194.2 的相似性达 99%, 进一步验证了本研究克隆的基因为 *MAP30* 基因。葫芦科其他植物的 RIP 蛋白与 *MAP30* 蛋白亲缘关系较远, 该研究结果表明: 苦瓜 *MAP30* 蛋白在苦瓜属植物中保守性较强。

通过分析 34 份苦瓜种质 *MAP30* 基因序列,

共发现 6 个 SNP 位点, 其中第 1 个 SNP 位于 5'-UTR 区, 其余 5 个 SNP 位于编码区。通过 SNP 分组发现, 34 份苦瓜种质资源共存在 3 种单倍型。与以往发表的 *MAP30* 基因序列相比, 其中第 1、2、4、5 SNP 位点从未报道, 第 3 SNP 位点在 DQ643968.1 中存在, 第 6 SNP 位点在 S79450.1 中存在^[5], 这种核苷酸水平的单碱基变化, 尤其位于 5'-UTR 区的 SNP, 是否会对 *MAP30* 基因的表达存在调控有待于进一步研究。对 *MAP30* 3 种单倍型编码的蛋白质进行比对显示, 共存在 3 个氨基酸变异位点, 3 个氨基酸变异位点分别对应于第 2、3、4 SNP 位点, 氨基酸变异位点是否影响 *MAP30* 蛋白的功能特性还有待于进一步研究。

[参考文献]

[1] ZHANG C Z, FANG E F, ZHANG H T, et al. *Momordica charantia* lectin exhibits antitumor activity towards hepatocellular carcinoma[J]. Investigational New

- Drugs, 2015, 33(1): 1. DOI: [10.1007/s10637-014-0156-8](https://doi.org/10.1007/s10637-014-0156-8).
- [2] LIAW C C, HUANG H H, HSIAO P C, et al. 5 β ,19-epoxycucurbitane triterpenoids from *Momordica charantia* and their anti-inflammatory and cytotoxic activity[J]. *Planta Medica*, 2015, 81(1): 62. DOI: [10.1055/s-0034-1383307](https://doi.org/10.1055/s-0034-1383307).
 - [3] PANDA B C, MONDAL S, DEVI K S, et al. Pectic polysaccharide from the green fruits of *Momordica charantia* (Karela): structural characterization and study of immunoenhancing and antioxidant properties[J]. *Carbohydrate Research*, 2015, 401(10): 24. DOI: [10.1016/j.carres.2014.10.015](https://doi.org/10.1016/j.carres.2014.10.015).
 - [4] YANG S J, CHOI J M, PARK S E, et al. Preventive effects of bitter melon (*Momordica charantia*) against insulin resistance and diabetes are associated with the inhibition of NF- κ B and JNK pathways in high-fat-fed OLETF rats[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2015, 26(3): 234. DOI: [10.1016/j.jnutbio.2014.10.010](https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2014.10.010).
 - [5] LEE-HUANG S, HUANG P L, NARA P L, et al. MAP 30: a new inhibitor of HIV-1 infection and replication[J]. *FEBS Letters*, 1990, 272(1/2): 12.
 - [6] SUN Y, HUANG P L, LI J J, et al. Anti-HIV agent MAP30 modulates the expression profile of viral and cellular genes for proliferation and apoptosis in AIDS-related lymphoma cells infected with Kaposi's sarcoma-associated virus[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2001, 287(4): 983. DOI: [10.1006/bbrc.2001.5689](https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.5689).
 - [7] SCHREIBER C A, WAN L, SUN Y T, et al. The antiviral agents, MAP30 and GAP31, are not toxic to human spermatozoa and may be useful in preventing the sexual transmission of human immunodeficiency virus type 1[J]. *Fertility and Sterility*, 1999, 72(4): 686. DOI: [10.1016/S0015-0282\(99\)00302-7](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(99)00302-7).
 - [8] BOURINBAIAR A S, LEE-HUANG S. The activity of plant-derived antiretroviral proteins MAP30 and GAP31 against herpes simplex virus *in vitro*[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1996, 219(3): 923.
 - [9] 周小东, 沈富兵. MAP30 蛋白结构功能的生物信息学研究[J]. *广西植物*, 2013, 33(4): 560. DOI: [10.3969/j.issn.1000-3142.2013.04.024](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-3142.2013.04.024).
 - [10] 林育泉, 周鹏, 曾召绵. 苦瓜 MAP30 蛋白基因克隆、表达及其抗肿瘤活性研究[J]. *中国生物工程杂志*, 2005, 25(5): 60. DOI: [10.3969/j.issn.1671-8135.2005.05.013](https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-8135.2005.05.013).
 - [11] 樊剑鸣, 许君, 张巧, 等. 苦瓜核糖体失活蛋白 MAP30 基因的表达及特性分析[J]. *郑州大学学报 (医学版)*, 2008, 43(6): 1142. DOI: [10.3969/j.issn.1671-6825.2008.06.021](https://doi.org/10.3969/j.issn.1671-6825.2008.06.021).
 - [12] 樊剑鸣, 朱沙, 罗俊, 等. 苦瓜蛋白 MAP30 在毕赤酵母中的表达及其诱发胃癌细胞 MCG803 凋亡的研究[J]. *现代预防医学*, 2009, 36(10): 1932.
 - [13] FAN J M, ZHANG Q, XU J, et al. Inhibition on hepatitis B virus *in vitro* of recombinant MAP30 from bitter melon[J]. *Molecular Biology Reports*, 2009, 36(2): 381. DOI: [10.1007/s11033-007-9191-2](https://doi.org/10.1007/s11033-007-9191-2).
 - [14] 朱振洪, 杨威威, 葛立军, 等. MAP30 全长基因的克隆及在巴斯德毕赤酵母中的高效表达研究[J]. *中国医药生物技术*, 2010, 5(2): 110. DOI: [10.3969/cmba.j.issn.1673-713X.2010.02.006](https://doi.org/10.3969/cmba.j.issn.1673-713X.2010.02.006).
 - [15] 张黎黎, 丁倩, 詹金彪. 苦瓜核糖体失活蛋白 MAP30 的原核表达和生物活性研究[J]. *浙江大学学报 (医学版)*, 2010, 39(3): 264. DOI: [10.3785/j.issn.1008-9292.2010.03.009](https://doi.org/10.3785/j.issn.1008-9292.2010.03.009).
 - [16] 韩晓红, 邵世和, 薛延军, 等. 重组苦瓜叶蛋白 MAP30 诱导人食管癌细胞株 EC-1.71 凋亡的实验研究[J]. *临床检验杂志*, 2011, 29(5): 354. DOI: [10.13602/j.cnki.jcls.2011.05.042](https://doi.org/10.13602/j.cnki.jcls.2011.05.042).
 - [17] 邱华丽, 穰杰, 丁学知, 等. 苦瓜 MAP30 蛋白的原核表达及其生物活性研究[J]. *中国生物工程杂志*, 2014, 34(6): 40. DOI: [10.13523/j.cb.20140606](https://doi.org/10.13523/j.cb.20140606).
 - [18] 王美娜, 潘娟, 王楠, 等. 苦瓜蛋白 MAP30 的抗菌作用及 PTD-MAP30 跨克氏原螯虾肠膜功能的研究[J]. *生物学通报*, 2015, 50(10): 43.
 - [19] 刘子记, 牛玉, 朱婕, 等. 苦瓜核心种质资源构建方法的比较[J]. *华南农业大学学报*, 2017, 38(1): 31. DOI: [10.7671/j.issn.1001-411X.2017.01.006](https://doi.org/10.7671/j.issn.1001-411X.2017.01.006).
 - [20] 刘子记, 牛玉, 杨衍. 热研一号油绿苦瓜种子纯度的 SSR 鉴定[J]. *热带作物学报*, 2013, 34(11): 2179. DOI: [10.3969/j.issn.1000-2561.2013.11.018](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-2561.2013.11.018).
 - [21] URASAKI N, TAKAGI H, NATSUME S, et al. Draft genome sequence of bitter melon (*Momordica charantia*), a vegetable and medicinal plant in tropical and subtropical regions[J]. *DNA Research: an International Journal for Rapid Publication of Reports on Genes and Genomes*, 2017, 24(1): 51. DOI: [10.1093/dnares/dsw047](https://doi.org/10.1093/dnares/dsw047).
 - [22] 赵妍, 丁国华, 鲍宁宇. 苦瓜果实的药用和苦瓜蛋白 MAP30 的研究进展[J]. *东北农业大学学报*, 2009, 40(10): 129. DOI: [10.3969/j.issn.1005-9369.2009.10.028](https://doi.org/10.3969/j.issn.1005-9369.2009.10.028).
 - [23] ARAZI T, HUANG P L, HUANG P L, et al. Production of antiviral and antitumor proteins MAP30 and GAP31 in cucurbits using the plant virus vector ZYMV-AGLL[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2002, 292(1): 441.
 - [24] FONG W P, WONG R N, GO T T, et al. Minireview: enzymatic properties of ribosome-inactivating proteins (RIPs) and related toxins[J]. *Life Sciences*, 1991, 49(25): 1859. DOI: [10.1016/0024-3205\(91\)90286-K](https://doi.org/10.1016/0024-3205(91)90286-K).
 - [25] 栾杰, 陈秀玲, 侯莉华, 等. MAP30 基因转化烟草的研究[J]. *东北农业大学学报*, 2012, 43(7): 109.
 - [26] 刘思, 林育泉, 周鹏, 等. 苦瓜 MAP30 蛋白功能区段缺失体构建及其生物活性研究[J]. *药物生物技术*, 2007, 14(6): 391. DOI: [10.3969/j.issn.1005-8915.2007.06.001](https://doi.org/10.3969/j.issn.1005-8915.2007.06.001).

责任编辑: 何承刚