

doi:10.3969/j.issn.1672-5565.2016.02.02

甜瓜蔗糖转化酶基因的密码子偏好性分析

赵莉,李思怡,张立虎,李冠*

(新疆大学生命科学与技术学院,乌鲁木齐 830046)

摘要:以甜瓜蔗糖转化酶基因序列为材料,研究甜瓜蔗糖转化酶基因密码子偏好性,为改良甜瓜风味与品质提供理论依据。运用在线分析软件 CodonW 对甜瓜蔗糖转化酶的编码序列(Coding sequence, CDS)进行密码子分析,利用 Mobylye 在线工具分析同义密码子相对使用度(RSCU)、有效密码子数(ENC)、GC及 GC1s、GC2s、GC3s 含量。甜瓜蔗糖转化酶基因偏好于以 A 或 T 结尾的密码子。密码子 ATT、GTT 和 AGA 的 RSCU 值都大于 1,属于共同偏好使用的密码子,而密码子 GCG、CGG 的 RSCU 值小于 1,属于使用频率较低的密码子。发现密码子偏好性与亲缘关系的远近有一定的关系。要实现目的基因在外源表达系统中的成功表达和提高其表达量,可通过增加目的基因剂量,目的基因密码子优化,改善培养条件等方法实现,其中目的基因密码子优化起到了关键作用。

关键词:甜瓜;蔗糖转化酶;密码子偏好性

中图分类号:S652;Q343.1+2 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-5565(2016)02-071-07

Analysis of codon bias of invertase genes in melon (*Cucumis melo L.*)

ZHAO Li, LI Siyi, ZHANG Lihu, LI Guan*

(College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

Abstract: The sequence of invertase genes of melon was used for studying the codon bias of invertase genes to provide a basis for the improvement of flavor and quality of melon. The sequence of CDS of invertase genes of melon was analyzed by Codon W program, then the Relative synonymius codon usage (RSCU), Effective Number of Codon (ENC), and the content of GC, GC1s, GC2s, GC3s were analyzed by Mobylye program. The invertase genes of melon preferred to use condons ending with A or T. ATT, GTT and AGA were common preference used codon with RSCU value more than 1. However, GCG and CGG was low frequently used codon with RSCU value less than 1. It is showed that preferences of condon has a certain relationship with genetic relationship. Successful expression of target gene in exogenous gene expression system and enhancement of its expression level were achieved through increasing the dose of the target gene, optimizing the codon of target gene, improving culture conditions and other methods, which the optimization of codon of target gene has played a key role.

Keywords: *Cucumis melo L.*; Invertase; Codon usage

甜瓜 (*Cucumis melo L.*) 果实中主要含有还原糖(葡萄糖、果糖)和非还原糖(蔗糖),以及柠檬酸和苹果酸等成分,不同的糖酸组分及含量形成了不同风味,其中糖酸代谢酶起到了重要作用^[1]。甜瓜果实中积累的糖分主要是蔗糖,而蔗糖的积累又一定受某种特定的代谢机制的调控,而蔗糖转化酶就是果实中蔗糖代谢相关酶中重要的一种,普遍的存在

于酵母、细菌和植物中,在植物糖代谢中发挥着重要的作用,能够不可逆的催化蔗糖水解成葡萄糖和果糖。按亚细胞定位,蔗糖转化酶可分为细胞壁蔗糖转化酶、液泡蔗糖转化酶和细胞质蔗糖转化酶^[2];按最适 pH 划分,可分为酸性转化酶和中性转化酶。细胞壁蔗糖转化酶、液泡蔗糖转化酶归为酸性转化酶,而细胞质蔗糖转化酶归为中性转化酶^[3]。可溶

收稿日期:2015-12-22;修回日期:2016-04-04.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.31260258)。

作者简介:赵莉,女,硕士,研究方向:生物化学与分子生物学;E-mail:1416964466@qq.com.

* 通信作者:李冠,男,教授,研究方向:植物生物化学与分子生物学;E-mail:guanli@xju.edu.cn.

性酸性蔗糖转化酶是一种液泡酶,催化蔗糖水解成己糖,起着调节植物组织中糖的积累和液泡中蔗糖的利用的作用。细胞壁酸性蔗糖转化酶主要参与韧皮部质外体卸载时蔗糖的分解,以保持库-源之间的浓度梯度^[4]。许多研究证明,植物体内蔗糖转化酶能对碳水化合物的代谢和分配有着调控,进而可以提高瓜果等作物的产量和品质。有关植物蔗糖转化酶方面的研究很多,但在甜瓜方面开展的工作却较少。我国是甜瓜生产大国,甜瓜糖度是一个反应甜瓜成熟度的重要指标,也是决定甜瓜商品等级的重要因素^[5]。曾有研究表明拟南芥花中蔗糖转化酶基因突变后会造成花蜜合成受阻,可溶性糖含量下降^[6];另有研究者通过RNA干扰的方式抑制了番茄中蔗糖转化酶抑制蛋白,使番茄的蔗糖转化酶的活性增强,果实中的糖分含量显著增加^[7]。这些探

索为我们提供了启示,在改良甜瓜风味的研究中,未见对甜瓜糖酸代谢相关酶的密码子使用偏好性进行研究。本实验对甜瓜蔗糖转化酶基因密码子进行探讨研究,以甜瓜蔗糖转化酶基因序列为材料,通过CodonW等软件分析CDS序列,并寻找密码子偏好性规律,为进一步改善甜瓜品质提供理论基础。

1 实验材料与方法

1.1 序列来源

本研究使用的甜瓜蔗糖转化酶编码序列(CDS)来源通过Cucurbit Genomics Database (<http://www.icugi.org/cgi-bin/ICuGI/index.cgi>)再在GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)找到CDS区,甜瓜蔗糖转化酶在数据库中的登录号及基因类型(见表1)。

表1 甜瓜蔗糖转化酶在数据库的登录号

Table 1 Accession number of melon sucrose invertase in the database

编号	葫芦科基因组数据库 登录号	GenBank 登录	来源	类型
1	MU43713	CAD19323	<i>Beta Vulgaris</i> (甜菜)	Acid invertase (酸性转化酶)
2	MU45089	CAA76145	<i>Daucus carota</i> (胡萝卜)	Neutral invertase (中性转化酶)
3	MU46770	ABA08442	<i>Manihot esculenta</i> (木薯)	Neutrall/alkaline invertase (中性/碱性转化酶)
4	MU47159	ACJ04702	<i>Cucumis melo</i> (甜瓜)	Invertase (转化酶)
5	MU50786	CAA84527	<i>Vicia faba var</i> (蚕豆变种)	Cell wall invertase II (细胞壁转化酶II)
6	MU51339	ABX55832	<i>Cucumis melo</i> (甜瓜)	Soluble acid invertase (可用性酸性转化酶)
7	MU51906	NP_199505	<i>Arabidopsis thaliana</i> (拟南芥)	Invertase (转化酶)
8	MU51981	NP_191841	<i>Arabidopsis thaliana</i> (拟南芥)	Invertase (转化酶)
9	MU53184	CAA72009	<i>Cichorium intybus</i> (菊苣)	Invertase (转化酶)
10	MU53489	AAL16015	<i>Carica papayal</i> (番木瓜)	Cell wall invertase (细胞壁转化酶)
11	MU59776	AAO21213	<i>Musa acuminata</i> (粉蕉)	Cell wall invertase (细胞壁转化酶)
12	MU60417	ACJ04701	<i>Cucumis melo</i> (甜瓜)	Invertase (转化酶)
13	MU65693	ACX33985	<i>Ananas comosus</i> (菠萝)	Neutral invertase (中性转化酶)

注:来源为首次发现所在植物,之后在甜瓜中发现。

Notes:Source;For the first time found in the plant, and then discovery in melon.

1.2 实验所用软件

运用 CodonW 版本 1.4.4(<http://mobyle.pasteur.fr/cgi-bin/portal.py?#forms::CodonW>)对甜瓜蔗糖转化酶的 CDS 序列进行密码子分析,利用 Mobyle 在线工具(<http://mobyle.pasteur.fr>)分析同义密码子相对使用度(Relative synonymius codon usage, RSCU)、有效密码子数(Efective Number of Codon, ENC)、GC 及 GC1s、GC2s、GC3s 含量与密码子适应指数(Condon Adaptation Index, CAI)。

同义密码子相对使用度(RSCU)是对同义密码子使用偏好性的评估,定义为某一同义密码子使用次数的观察值与该密码子出现次数的期望值的比值。如果密码子的使用无偏好性,则 RSCU 值为 1;如果某一密码子使用频繁,则 RSCU 值大于 1;如果某一密码子使用频率低,则 RSCU 值小于 1^[8]。有效密码子数(ENC)反映基因密码子使用的偏好程度,取值范围为 20(每个氨基酸只使用一个密码子)~61(各个密码子被均衡使用),其值越小,表明该基因的密码子使用偏好性越强^[9]。可以根据已知高表达基因的序列来估计未知基因密码子使用的偏好性程度。CAI 的值在 0~1,如果越高则表明该基因的密码子使用偏好性越强。

利用 DNAMAN8 软件对甜瓜蔗糖转化酶的 CDS 序列进行多序列比对,之后对 CDS 序列用邻接距离矩阵法进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 有效密码子数及碱基组成分析

13 条甜瓜蔗糖代谢酶基因的 ENC 值、GC 碱基含量以及密码子第一、第二、第三位的 GC 碱基含量计算见表 2。结果显示:在 13 条甜瓜蔗糖转化酶的基因序列中,有 9 条(2: MU4509、4: MU47159、6: MU51339、7: MU51906、8: MU51981、9: MU53184、10: MU53489、12: MU60417、13: MU65693)基因的 ENC 值大于 50,说明它们的密码子使用偏好性很弱,剩余 4 条(1: MU43713、3: MU46770、5: MU50786、11: MU59776)基因的 ENC 值在 40.649~49.769 之间,为一般偏好性基因。进一步分析 13 条甜瓜蔗糖转化酶基因 GC 含量及密码子第一、二、三位的 GC 含量,发现 3 条为一般偏好性基因(1: MU43713、3: MU46770、5: MU50786)的 GC 含量呈现 GC1s>GC2s>GC3s 规律,且它们的 GC 含量都小于 50%,说明这 3 条甜瓜蔗糖转化酶基因在编码时偏好使用 A 或 T 结尾的密码子。8: MU51981、10: MU53489、11: MU59776 的 GC3s 含量都大于 GC2s 与 GC1s,且 GC3s 含量大于 50%,说明这些基因在编码时偏好使用 G 或 C 结尾的密码子,其余的基因都偏好使用 A 或 T 结尾的密码子(见表 2)。

表 2 13 条甜瓜蔗糖转化酶基因的有效密码子数及碱基组成

Table 2 ENC and base composition of 13 sucrose converting enzyme genes from melon

编号	登录号	GC(%)	GC1s(%)	GC2s(%)	GC3s(%)	ENC	CAI
1	MU43713	41.77	48.87	39.17	37.26	48.203	0.207
2	MU45089	42.65	48.37	41.12	38.46	51.540	0.174
3	MU46770	43.67	49.46	43.19	38.35	49.769	0.190
4	MU47159	47.91	52.14	43.26	48.34	56.933	0.228
5	MU50786	35.68	44.33	36.94	25.77	40.649	0.204
6	MU51339	45.89	52.89	43.01	41.76	53.173	0.236
7	MU51906	41.43	41.24	41.24	41.81	56.128	0.221
8	MU51981	49.23	45.64	47.18	54.87	55.051	0.215
9	MU53184	44.22	48.64	39.38	44.65	55.206	0.219
10	MU53489	47.86	50.09	42.02	51.46	56.800	0.234
11	MU59776	57.41	54.68	43.61	73.94	47.875	0.213
12	MU60417	45.05	43.09	51.05	40.99	53.126	0.227
13	MU65693	46.12	53.20	40.70	44.48	58.756	0.170

2.2 甜瓜蔗糖转化酶密码子使用特性分析

用 CodonW1.4.4 软件计算 13 条甜瓜蔗糖转化酶基因密码子的 RSCU 值。分析发现,在 13 条基因中,密码子 ATT、GTT 和 AGA 的 RSCU 值都大于 1,属于共同偏好使用的密码子,而密码子 GCG、CGG 的 RSCU 值小于 1,属于共同使用频率较低的密码

子,见表 3。

综上所述,在基因工程中可以根据每条甜瓜蔗糖转化酶基因的密码子使用特征来设计基因序列,优化基因密码子,尽量避免使用频率低的密码子,使外源基因在受体物种中能够高效稳定地表达^[10]。

表3 13条甜瓜蔗糖转化酶基因同义密码子的相对使用度

Table 3 The relative synonymous codon usage of 13 sucrose converting enzyme genes from melon

氨基酸	密码子	同义密码子相对使用度(RSCU)												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Phe	TTT	1	1.2	1.38	1.24	1.38	1.22	1	1.67	1.31	1.04	1.1	1.52	1.27
	TTC	1	0.8	0.62	0.76	0.62	0.78	1	0.33	0.69	0.96	0.9	0.48	0.73
Leu	TTA	1.08	1.45	0.45	0.56	1.15	0.74	1.14	0.2	1.38	0.7	1.03	0.92	1
	TTG	1.8	1.45	1.47	1.89	1.96	1.68	1.71	1	1.38	1.95	1.69	1.12	1
	CTT	1.68	1.18	1.92	0.78	1.27	1.47	1.14	1.8	0.62	0.56	1.41	2.24	1
	CTC	0.96	0.64	0.91	2	0.46	0.74	0.86	2.6	0.62	1.53	0.56	0.92	0.67
	CTA	0.12	0.18	0.34	0.56	0.69	0.84	0.57	0.4	0.62	0.42	0.38	0.71	1.17
	CTG	0.36	1.09	0.91	0.22	0.46	0.53	0.57	0	0.62	0.84	0.94	0.1	1.17
	Ile	ATT	1.12	2	1.82	1.44	1.84	1.78	2.5	1.2	1.14	1.16	1.73	1.41
	ATC	1.03	0.33	0.47	1	0.59	0.84	0.5	1.2	1.34	1.26	0.8	1.22	0.5
	ATA	0.84	0.67	0.71	0.56	0.59	0.38	0	0.6	0.52	0.58	0.47	0.38	1.12
Val	GTT	2.16	1.5	1.67	1.43	2.05	1.28	2.91	1.6	1.88	1.17	1.16	2	1.41
	GTC	0.43	0.67	0	0.83	0.62	0.77	0.73	2.4	0.88	1.25	0.74	1	0.94
	GTA	0.86	0.67	1.17	0.45	0.72	0.94	0	0	0.38	0.5	0.42	0.56	0.71
	GTG	0.54	1.17	1.17	1.28	0.62	1.02	0.36	0	0.88	1.08	1.68	0.44	0.94
Ser	TCT	0.62	1.38	1.57	1.22	1.53	1.39	2.4	1.35	1.2	1.32	0.65	0.69	2
	TCC	0.77	0.69	0	1.44	0	1.5	0	0.97	0.96	0.88	0.98	2.06	0.29
	TCA	1.69	1.27	2.57	1.22	2.17	1.5	0.6	1.35	1.08	1.17	1.53	1.11	0.57
	TCG	0	1.04	0.43	0.89	0.13	0.21	1.2	0.39	0.6	0.88	0.87	0.26	1.43
	AGT	1.85	1.15	0.71	0.89	1.66	0.75	1.2	0.97	1.56	1.02	1.2	1.29	0.57
	AGC	1.08	0.46	0.71	0.33	0.51	0.64	0.6	0.97	0.6	0.73	0.76	0.6	1.14
Pro	CCT	2.13	1.71	1.63	1.3	1.94	0.95	0.5	0	1.55	0.8	1.47	1.21	1.68
	CCC	0.53	0.57	0.3	1	0.13	0.63	0	1.6	0.13	0.8	0.53	0.36	0.63
	CCA	1.07	1.14	2.07	0.6	1.81	0.95	1.5	0.8	1.29	1.4	1.33	1.94	1.26
	CCG	0.27	0.57	0	1.1	0.13	1.47	2	1.6	1.03	1	0.67	0.48	0.42
Thr	ACT	1.86	1.38	1.79	1.54	2.12	1.47	0.95	0.71	1.14	1	1.29	1.14	0.75
	ACC	0.57	0.14	0.69	0.82	0.38	0.32	1.14	0.24	1.14	1	1	1.71	0.5
	ACA	1.29	2.07	1.38	1.23	1.5	1.58	0.76	0.71	1	1.12	1.14	0.38	2
	AGG	0.29	0.41	0.14	0.41	0	0.63	1.14	2.35	0.71	0.88	0.57	0.76	0.75
Ala	GCT	1.64	1.88	1.19	1.3	2	1.82	1.41	1.07	1.71	1.8	1.23	0.89	1.54
	GCC	0.21	0.47	0.76	1.4	0.18	0.82	0.71	1.33	1.14	1	0.92	0.89	0.77
	GCA	1.85	1.29	1.62	0.6	1.82	0.91	1.81	1.07	0.86	0.8	1.33	1.63	1.54
	GCG	0.31	0.35	0.43	0.7	0	0.45	0.71	0.53	0.29	0.41	0.51	0.59	0.15
Tyr	TAT	1.33	1.52	1.16	1.07	1.67	1.19	0.8	0	0.89	0.75	1.3	1.6	1.14
	TAC	0.67	0.48	0.84	0.93	0.33	0.81	1.2	2	1.11	1.25	0.7	0.94	0.86
His	CAT	1.57	1.67	1.82	1.09	1.5	1.12	0	0	0.71	1.12	1.47	0.88	0.5
	CAC	0.43	0.33	0.18	0.91	0.5	0.88	0	2	1.29	0.88	0.53	1.12	1.5
Gln	CAA	0.53	1	1.23	1.41	1.75	1.43	0.5	1	1.27	0.86	1.14	1.6	0.5
	CAG	1.47	1	0.77	0.59	0.25	0.57	1.5	1	0.73	1.14	0.86	0.4	1.5

续(表 3)

氨基酸	密码子	同义密码子相对使用度(RSCU)												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Asn	AAT	1.56	1.64	1.38	1.2	1.47	0.92	1	0.57	1.1	0.8	1.53	0.9	1.6
	AAC	0.44	0.36	0.62	0.8	0.53	1.08	1	1.43	0.9	1.2	0.47	1.1	0.04
Lys	AAA	1	0.93	1.15	1	1.32	0.91	1.43	1.08	1	0.94	0.72	0.86	1.2
	AAG	1	1.07	0.85	1	0.68	1.09	0.57	0.92	1	1.06	1.28	1.14	0.8
Asp	GAT	1.35	1.46	1.49	1.41	1.76	1.09	1.67	0.73	1.14	1.33	1.43	1.42	1.68
	GAC	0.65	0.54	0.51	0.59	0.24	0.91	0.33	1.27	0.86	0.67	0.57	0.58	0.32
Glu	GAA	1.18	0.88	0.83	1.21	1.03	1.14	1.6	1.5	1.43	0.97	0.73	1.53	0.5
	GAG	0.82	1.12	1.17	0.79	0.97	0.86	0.4	0.5	0.57	1.03	1.27	0.47	1.5
Cys	TGT	1.33	1.67	1.27	1.33	1.6	1.6	1	1.5	0.29	0.86	1.25	0.93	1
	TGC	0.67	0.33	0.73	0.67	0.4	0.4	1	0.5	1.71	1.14	0.75	1.07	1
Arg	CGT	0.26	1.02	0.31	0	0	0.95	3	0.43	0.27	0.46	0.73	0.78	1.5
	CGC	0.26	0	0.92	1.04	0	0	0	1.29	0.27	0	0.29	0.65	0.38
	CGA	0.78	1.02	0.92	1.3	0.3	1.26	1.5	0.86	1.09	0.92	0.59	1.7	1.12
	<u>CGG</u>	0.26	0.59	0.46	0.52	0.3	0.32	0	0.86	0.55	0	0.88	0.39	0.75
	AGA	3.39	1.46	1.85	2.09	4.2	3.16	1.5	1.29	2.18	2.08	2.34	1.57	1.12
Gly	AGG	1.04	1.9	1.54	1.04	1.2	0.32	0	1.29	1.64	2.54	1.17	0.91	1.12
	GGT	1.12	1.63	1.2	1.24	1.62	1.45	1	1	0.46	1.33	1.28	1.02	0.36
	GGC	0.47	0.34	0.5	1.38	0.1	0.51	0.5	1	0.57	0.62	0.72	0.84	1.27
	GGA	1.67	0.95	1.1	0.51	1.81	1.31	2	0	1.94	1.03	1.28	1.4	1.45
	GGG	0.74	1.08	1.2	0.87	0.48	0.73	0.5	2	1.03	1.03	0.72	0.74	0.91

注:方框中的密码子为共同偏好使用密码子,下划线密码子为共同使用频率低的密码子。

Notes:Common preference for the use of codon in the box,the common use of the low frequency of the underline.

2.3 CDS 序列的聚类分析

通过 DANMAN 将甜瓜蔗糖转化酶基因 CDS 序列进行聚类结果,结合甜瓜蔗糖转化酶密码子使用特性发现基因密码子偏好性差异大小与亲缘关系远近有关。

前人研究发现在基因类型和功能一定的情况下,进化上亲缘关系较近的作物间,同义密码子的用法相似^[11],与本研究的结论一致。通过进化树分枝可以看出 2 和 13、1 和 9、4 和 6 的进化树分枝较近,总变异值差较小,发现在 18 个氨基酸中有 11 个氨基酸密码子偏好性相同,其中 2 与 13 都为中性转化酶,4 与 6 的最初来源相同,而 3 和 8 虽然在进化树一个分枝,但总变异值相差较大,在 18 个氨基酸中有 6 个氨基酸密码子偏好性相同。5 和 11 的总变异值差较小,但不在一个进化树分枝,在 18 个氨基酸中只有 1 个氨基酸密码子偏好性相同。由此得出总变异值差较小且在同一进化分枝上的密码子偏好性差异最小,其次为在同一进化分枝上但总变异值差较大的密码子偏好性差异较小,总变异值差

较大且不在同一分枝的密码子偏好性差异较大(见图 1)。

3 讨论

糖分含量是衡量甜瓜品质的主要指标之一,而蔗糖的积累是甜瓜果实糖分提高的重要因素^[12]。密码子偏好性在蛋白质的结构功能、生物信息学等研究中有重要的意义,受到了广泛的关注,密码子使用偏好性受很多因素影响,如基因碱基组成、表达水平等^[13-14]。

先前的研究表明禾本科作物少用或避免使用以 A 或 T 结尾的密码子,偏好于使用以 G 或 C 结尾的密码子,而双子叶作物则相反^[15-17],这与我们研究的甜瓜蔗糖转化酶基因的偏好性结果一致。甜瓜蔗糖转化酶基因中密码子 ATT、GTT 和 AGA 为共同偏好使用密码子,而 GCG 和 CGG 为共同使用频率低的密码子。甜瓜蔗糖转化酶基因亲缘关系的远近对密码子偏好性也有一定的影响,亲缘关系越远,基因密码子偏好性差异越大,反之则密码子偏好性差异

越小。为了提高外源蔗糖转化酶基因在甜瓜的表达水平,虽然可通过优化目的基因密码子,增加目的基

因表达量,但是甜瓜蔗糖转化酶基因的 CAI 值较低,不易对密码子进行优化。

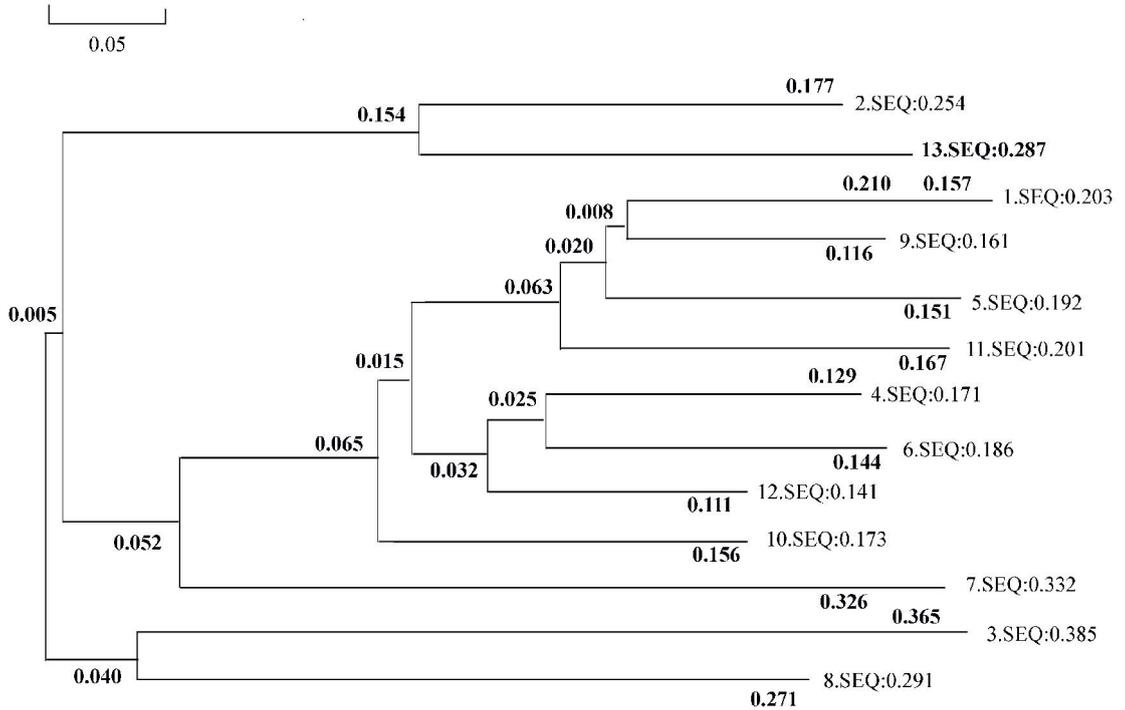


图 1 13 条甜瓜蔗糖转化酶基因的聚类分析

Fig. 1 Cluster analysis of 13 sucrose converting enzyme genes from melon

注:数值(黑体数字)是序列变异值,末尾的数值为物种的总变异值。

Notes:The black value is the sequence variation, and the end of the value is the total variation of the species.

4 结论

通过分析甜瓜蔗糖转化酶基因的密码子偏好性,发现该基因的密码子的第三位主要偏好以 A 或 T,而较少使用以 C 或 G。共同偏好使用的密码子为 ATT、GTT 和 AGA,而使用频率较低的密码子为 GCG、CGG。研究甜瓜蔗糖转化酶密码子使用特性发现基因密码子偏好性差异大小与亲缘关系远近有关。

参考文献

- [1] 张红,王怀松,贺超兴,等.甜瓜糖酸性状的遗传研究[J].园艺学报,2009,36(7):58-65.
ZHANG Hong, WANG Huaisong, HE Chaoxing, et al. Genetic study on sugar and sour traits of melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2009, 36(7): 58-65.
- [2] RAUSCH T, GREINER S. Plant protein inhibitors of invertases [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2004, 1696(2): 253-261.
- [3] MASUDA H, TAKAHASHI T, SUGAWARA S. The occurrence and properties of alkaline invertase in mature roots of

sugar beets [J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1987, 51(9): 2309-2314.

- [4] 苏宁,杨万年.油菜蔗糖转化酶基因的电子克隆和生物信息学分析[J].生物信息学,2013,11(3):224-232.
SU Ning, YANG Wannian. In silico cloning and bioinformatics analysis of invertase gene in *Brassica napus* [J]. Chinese Journal of Bioinformatics, 2013, 11(3): 224-232.
- [5] 张立虎,李冠,张自强,等.便携式糖度无损检测仪在甜瓜糖度检测中的应用[J].新疆农业科学,2014,51(12):2347-2352.
ZHANG Lihu, LI Guan, ZHANG Ziqiang, et al. Application of nondestructive portable sugar content taster in inspection of sugar content in melons [J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2014, 51(12): 2347-2352.
- [6] JEFFREY M, RUHLMANN, BRIAN W, et al. CELL WALL INVERTASE 4 is required for nectar production in *Dopsis* [J]. Journal of Experimental Botany, 2010, 61(2): 395-404.
- [7] JIN Y, NI D A, RUAN Y L. Posttranslational elevation of cell wall invertase activity by silencing its inhibitor in tomato delays leaf senescence and increases seed weight and fruit hexose level [J]. Plant Cell, 2009, 21(7): 2072-2089.
- [8] SHARP P M, LI W H. An evolutionary perspective on synonymous codon usage in unicellular organisms [J]. Journal of

- Molecular Evolution, 1986, 24 (1-2):28-38.
- [9] GUPTA S K, BHATTACHARYYA T K, GHOSH T C. Synonymous codon usage in lactococcus lactis: mutational bias versus translational selection[J]. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 2004, 21(4):1-9.
- [10] 郭玉平, 单天雷, 袁延超, 等. 不同作物 *FAD2* 基因密码子偏好性分析[J]. 山东农业科学, 2013, 45(7):24-28.
GUO Yuping, SHAN Tianlei, YUAN Yanchao, et al. Analysis of codon usage bias of *FAD2* gene in different crops[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2013, 45(7):24-28.
- [11] 刘汉梅, 赵耀, 顾勇, 等. 几种植物 *waxy* 基因的密码子用法特性分析[J]. 核农学报, 2010, 24(3):476-481.
LIU Hanmei, ZHAO Yao, GU Yong, et al. Characterization of codon usage of *waxy* genes in several plants[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2010, 24(3):476-481.
- [12] LOWELL C A, TOMLINSON P T, KOCH K E. Sucrose-metabolizing enzymes in transport tissue and adjacent sink structures in developing citrus fruit[J]. Plant Physiology, 1989, 90(4):1394-1402.
- [13] CARLINI D B, CHEN Y, STRPHAN W. The relationship between third position nucleotide content, codon bias, mRNA secondary structure and gene expression in the drosophilid alcohol dehydrogenase genes *Adh* and *Adhr*[J]. Genetics, 2001, 159(2):623-633.
- [14] KARLIN S, CAMPBELL A M, MRAZEK J. Comparative DNA analysis across diverse genomes [J]. Annual Reviews of Genetics, 1998, 32:185-225.
- [15] 顾万君, 马建民, 周童, 等. 不同折叠类型蛋白编码基因的密码子使用[J]. 东南大学学报(自然科学版), 2002, 32(3):362-366.
GU Wanjun, MA Jianmin, ZHOU Tong, et al. Codon usage in genes for proteins with different folding type[J]. Journal of Southeast University (Natural Science Edition), 2002, 32(3):362-366.
- [16] WANG L, ROOSSINCK M J. Comparative analysis of expressed sequences reveals a conserved pattern of optimal codon usage in plants[J]. Plant Molecular Biology, 2006, 61(4):699-710.
- [17] 刘庆坡, 冯英, 董辉. 20个物种同义密码子偏性的比较分析[J]. 西北农林科技大学学报, 2004, 32(7):67-71.
LIU Qingpo, FENG Ying, DONG Hui. Comparative studies on synonymous codon usage bias in twenty species [J]. Journal of Northwest A & F University, 2004, 32(7):67-71.