

小麦*DUF642*基因全基因组鉴定及转录组分析

王志清¹, 夏鹏亮², 金莹莹¹, 杨艳¹, 李薇¹

¹长江大学农学院, 湿地生态与农业利用教育部工程研究中心/主要粮食作物产业化湖北省协同创新中心, 湖北 荆州

²湖北恩施州烟草公司, 湖北 恩施

收稿日期: 2022年9月8日; 录用日期: 2022年10月24日; 发布日期: 2022年10月31日

摘要

【目的】分析小麦细胞壁相关蛋白*DUF642* (Domain of Unknown Function 642)基因家族的特点。【方法】在小麦全基因组内对*DUF642*家族成员进行鉴定, 并且对其进化关系、基因结构、蛋白特性、保守基序、顺式作用元件和转录组信息进行系统分析。【结果】*TaDUF642*家族中共有34个家族成员, 多物种系统进化树分析、基因结构和保守基序显示, *TaDUF642*家族成员在进化上具有较高的保守性; 蛋白特征显示, 大多数*TaDUF642*蛋白为酸性蛋白质和亲水性蛋白质; 亚细胞定位预测显示, *TaDUF642*大多定位在叶绿体; 转录组数据分析显示, *TaDUF642*基因广泛参与小麦的生长发育和非生物胁迫, 并且与禾谷镰刀菌、条锈菌和白粉菌的侵染紧密相关。【结论】本研究精准鉴定了小麦*TaDUF642*基因家族成员及其表达模式, 为小麦在抗逆方面的遗传改良提供了理论依据。

关键词

小麦, *DUF642*, 全基因组鉴定, 转录组分析

Genome-Wide Identification and Transcriptome Analysis of *DUF642* Gene Family in Wheat

Zhiqing Wang¹, Pengliang Xia², Yingying Jin¹, Yan Yang¹, Wei Li¹

¹Hubei Collaborative Innovation Center for Grain Industry, Engineering Research Center of Wetland Ecology and Agricultural Use/Ministry of Education, College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou Hubei

²Enshi Tobacco Company of Hubei Province, Enshi Hubei

Received: Sep. 8th, 2022; accepted: Oct. 24th, 2022; published: Oct. 31st, 2022

文章引用: 王志清, 夏鹏亮, 金莹莹, 杨艳, 李薇. 小麦 *DUF642* 基因全基因组鉴定及转录组分析[J]. 植物学研究, 2022, 11(6): 630-640. DOI: 10.12677/br.2022.116077

Abstract

[Objective] Further analyze the properties of *DUF642* (Domain of Unknown Function 642) gene family related cell wall in wheat. **[Method]** The *DUF642* family members were identified throughout the whole wheat genome, and their evolutionary relationships, gene structure, protein characteristics, conserved motifs, cis-acting elements and transcriptome information were systematically analyzed. **[Result]** There were 34 family members in *TaDUF642* family. Phylogenetic tree analysis, gene structure and conserved motifs showed that *TaDUF642* family members were highly conserved in evolution. Protein characteristics showed most of the *TaDUF642* proteins were acidic and hydrophilic. Subcellular localization prediction indicated that *TaDUF642* was mostly localized in chloroplast. The analysis of transcriptome data suggested that *TaDUF642* genes is widely involved in the growth and development and abiotic stress of wheat, and is closely related to the infection of *Fusarium gramineis*, stripe rust and powdery mildew. **[Conclusion]** Members of the *TaDUF642* genes family and their expression patterns were accurately identified in wheat, which provided a theoretical basis for the genetic improvement of wheat resistance to stress.

Keywords

Wheat, *DUF642*, Genome-Wide Identification, Transcriptome Analysis

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

【研究意义】小麦(*Triticum aestivum*)是世界第二大粮食作物, 培育抗病、抗倒、节水、抗逆、广适、养分高效的小麦品种尤为重要。加强小麦重要性状功能基因克隆和功能标记开发, 能够加快小麦遗传改良进程, 缩短育种年限, 提高育种效率[1]。未知功能域蛋白家族 *DUF642* (Domain of Unknown Function 642, *DUF642*)是种子植物中特有的未知功能的细胞壁相关蛋白, 含有 1~2 个高度保守的 *DUF642* 结构域[2], 它不仅参与细胞壁的形成, 影响植物的生长发育[3], 而且在抵御逆境胁迫如干旱、盐和铝毒胁迫, 病原微生物侵染等方面发挥着重要的功能, 对提高小麦产量具有潜在的应用价值。

【前人研究进展】拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) *DUF642* 基因 *At4g32460* 被定位在细胞壁[4], 它参与了果胶甲基酯酶(Pectin methyl esterase, PME)在种子萌发和植株发育中的调控[5]。拟南芥 *DUF642* 蛋白 *At2g41800* 在根、柱头和下胚轴中表达, 其突变体能够使幼苗的下胚轴长度增加, 说明该基因参与下胚轴的伸长[6]。研究表明, *DUF642* 蛋白家族基因积极响应植物的非生物胁迫。编码籽粒苋(*Amaranthus hypochondriacus*) *DUF642* 蛋白的基因 *AhDGR2* 能够改变细胞壁的结构和组成, 在干旱和盐胁迫下表达量发生显著变化, 并且可以诱导转基因拟南芥对盐和脱落酸(Absciscic acid, ABA)的高敏感性[7]。在对水稻(*Oryza sativa*) *DUF642* 家族基因的研究中发现, *OsDUF642* 基因可能参与 ABA 介导的非生物逆境响应, 例如高温、干旱、盐胁迫等[8]。在研究玉米(*Zea mays*) *DUF642* 蛋白家族时, 也发现了多个能够强烈响应干旱、盐和铝胁迫的基因[9]。另外, 拟南芥 *DUF642* 基因 *At5g25460* 和 *At3g08030* 可受细菌侵染诱导表达。在接种青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)后 *At5g25460* 表达量下调[10], 在接种带化红球菌

(*Rhodococcus fascians*)后 *At3g08030* 表达量上调[11]。在陆地棉(*Gossypium hirsutum*) DUF642 蛋白家族的研究中发现, 6 个 *GhDUF642* 基因受黄萎病菌诱导差异表达, 并通过 VIGS 技术证明陆地棉 *DUF642* 基因参与了棉花抗黄萎病过程[12]。研究从中国葡萄(*Vitis. quinquangularis*)丹凤 2 号中克隆的 *VqDUF642* 发现, *VqDUF642* 参与植物果实发育及对白粉菌和灰霉菌的防御反应。*VqDUF642* 定位于烟草表皮细胞细胞壁, 在转基因番茄植株中过量表达 *VqDUF642* 加快植株生长, 并且能够降低对灰霉菌的敏感性。过表达 *VqDUF642* 的转基因无核葡萄植株对白粉菌和灰霉病菌的抗性增强[13]。

【本研究的切入点】基于 DUF642 蛋白家族在植物生命活动中的重要意义, 本研究对小麦全基因组 *DUF642* 基因家族成员进行了鉴定, 并对其进化关系、编码蛋白特征、保守性、染色体位置、启动子和转录组信息进行了分析。【拟解决的关键问题】为进一步研究小麦 *DUF642* 基因家族的功能和小麦的遗传改良提供了新的线索。

2. 材料与方法

2.1. *TaDUF642* 基因鉴定和系统发育

首先, 从 Pfam (<https://pfam.xfam.org>) [14]下载 Pfam 域为 PF04862 (DUF642)的[5]种子序列, 从 EnsemblPlants 数据库(<http://plants.ensembl.org/index.html>)下载拟南芥、水稻的 DUF642 蛋白序列, 以上述序列作为查询序列进行 BLASTp ($E < 10^{-5}$)分析, 删除不含有 PF04862 结构域的序列, 再删除可变剪切和冗余序列, 最终确定小麦 *DUF642* 基因家族成员。然后进行 ClustalW2 [15]比对, 利用 MEGA 7.0 最大似然法 (maximum likelihood, ML)生成系统发育树(bootstrap = 1000) [16], 并使用 ITOL 工具(<http://itol.embl.de>)美化系统发育树。

2.2. *TaDUF642* 基因蛋白特性预测

使用蛋白分析工具 ExPASy (<https://www.expasy.org>) [17]预测 *TaDUF642* 基因的蛋白特性, 包括氨基酸长度(aa)、分子量(Mw)、等电点(pI)、稳定性和亲水性(GRAVY)。在小麦基因组注释信息 GFF3 文件中提取 *TaDUF642* 基因的染色体位置信息, 使用 MapInspect 进行可视化分析。通过网站 Plant-mPLO (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>) [18]进行亚细胞定位预测。

2.3. *TaDUF642* 基因基序和基因结构分析

将 *TaDUF642* 蛋白序列上传到 MEME v5.4.1 (<http://meme-suite.org/index.html>) [19]搜索其保守序列, 设置搜索 Motif 值为 15, 然后用 TBtools 绘制 motif 分析图。根据 *TaDUF642* 基因注释信息, 通过 TBtools 绘制其基因结构图[20]。

2.4. *TaDUF642* 基因顺式作用元件鉴定

从小麦数据库提取 *TaDUF642* 基因上游序列 1500 bp, 使用 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) [21]搜索启动子序列中的顺式元件, 然后用 R 软件包的“Pheatmap”展示预测结果。

2.5. *TaDUF642* 基因转录组分析

从 NCBI 的 SRA 数据库收集小麦多条件转录组分析的原始 RNA-seq, 并将 RNA-seq 数据通过 Hisat2 比对到小麦参考基因组。基因表达水平通过片段按每百万碱基对外显子每千克碱基数(FPKM)模型进行归一化[22]。然后利用 R 软件包的“Pheatmap”绘制热图。

3. 结果与分析

3.1. *TaDUF642* 基因鉴定和系统发育分析

经同源检索, 在小麦中鉴定到 34 个 *DUF642* 基因家族成员。构建小麦、拟南芥和水稻的 *DUF642* 蛋白家族复合系统进化树(图 1), 然后根据其亲缘关系的远近进行命名。结果表明, *DUF642* 家族基因可分为 5 组(group a、group b、group c、group d、group e), *TaDUF642* 在各组中均有分布, 其中, group e 含有的 *DUF642* 基因最多(23 个), group c 含有的 *DUF642* 基因最少(2 个)。与拟南芥和水稻相比, 小麦 *DUF642* 家族基因数目较多, 这可能是由于小麦经过两轮全基因组复制形成异源六倍体, 从而使不同染色体组间具有了同源基因造成的[23]。

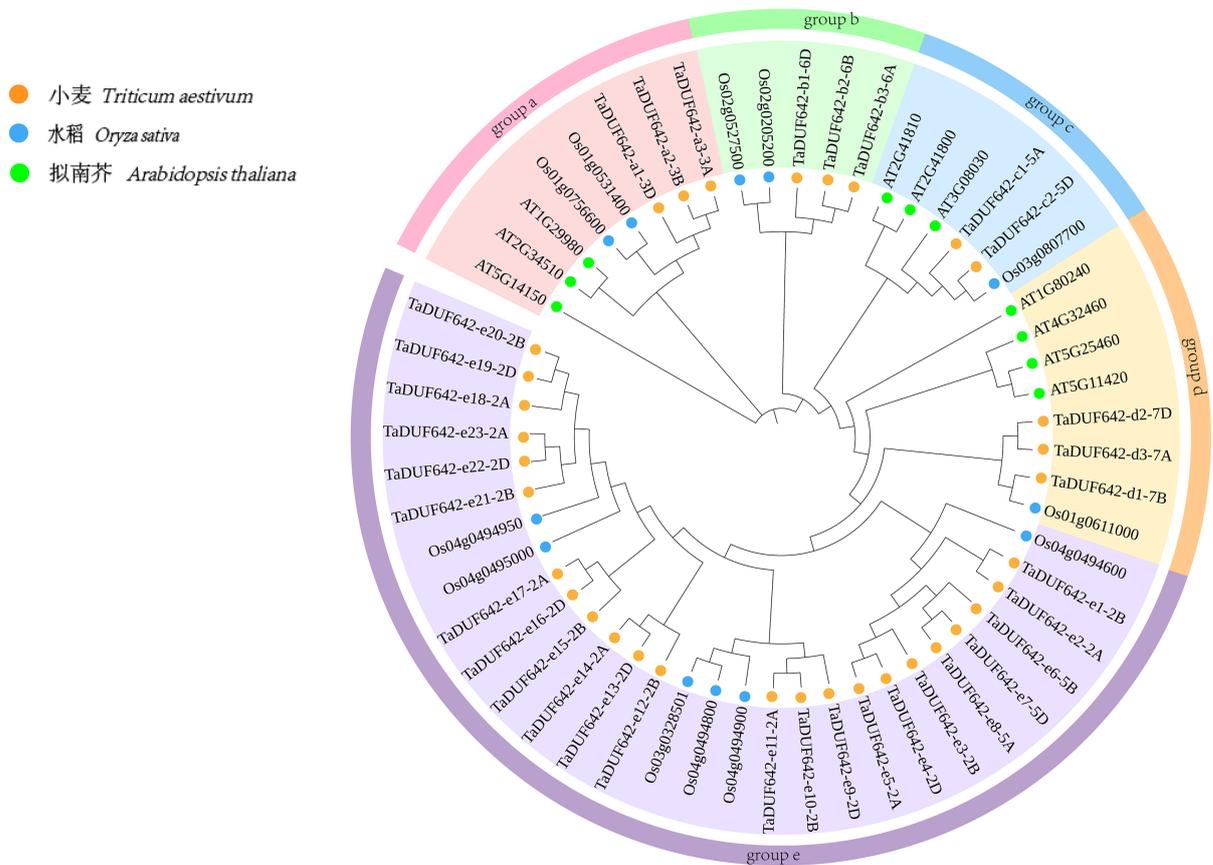


Figure 1. Phylogenetic relationships of *DUF642* proteins in *Triticum aestivum*, *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana*
图 1. 小麦, 水稻和拟南芥 *DUF642* 蛋白的进化关系

3.2. *TaDUF642* 基因蛋白特性预测

用 ExPASy Server 10 预测的 34 个小麦 *DUF642* 基因的蛋白特性(表 1)显示, *TaDUF642* 的蛋白质平均长度为 377 aa (307~432); 平均等电点为 6.8 (4.54~9.24), 大多为酸性蛋白质; 不稳定指数值为 38.47 (31.1~47.51), 蛋白质相对稳定(指数小于 40); 脂溶性指数值为 84.02 (74.3~92.89); 亲水性指数为-0.032 (-0.21~0.115), 大部分为亲水性蛋白质(指数小于 0)。 *TaDUF642* 家族基因在 A、B 和 D 三个染色体组上均有分布且具有相似性, 分布在 chr2A、chr2B 和 chr2D 上的数量较多, 分别为 7、7 和 6 个。亚细胞定位预测结果显示, 大多数 *TaDUF642* 蛋白位于叶绿体上。

Table 1. Sequence characteristics of the 34 *TaDUF642* genes identified
表 1. 34 个 *TaDUF642* 基因的序列特征

| 命名 Name | 基因 ID Gene ID | 长度 /aa Length | 分子质 量/kDa Mw | 染色 体 Chr | 等电 点 pI | 不稳定指 数 Instability index | 亲水 指数 GRAVY | 预测位置 Predicted location |
|-------------------------|-----------------------|---------------------|--------------------|----------------|---------------|-----------------------------------|-------------------|-------------------------------|
| <i>TaDUF642</i> -a1-3D | TraesCS3D03G0675900.1 | 394 | 41.84 | 3D | 4.56 | 36.52 | 0.084 | 细胞质 |
| <i>TaDUF642</i> -a2-3B | TraesCS3B03G0839500.1 | 394 | 41.89 | 3B | 4.54 | 36.73 | 0.076 | 细胞质 |
| <i>TaDUF642</i> -a3-3A | TraesCS3A03G0732600.1 | 395 | 42.08 | 3A | 4.58 | 37.13 | 0.088 | 细胞质 |
| <i>TaDUF642</i> -b1-6D | TraesCS6D03G0373700.1 | 340 | 36.61 | 6D | 9.24 | 40.97 | -0.132 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -b2-6B | TraesCS6B03G0541800.1 | 374 | 40.14 | 6B | 9.23 | 39.38 | -0.118 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -b3-6A | TraesCS6A03G0441500.1 | 374 | 40.08 | 6A | 9.12 | 39.59 | -0.091 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -c1-5A | TraesCS5A03G1084300.1 | 432 | 45.36 | 5A | 9.23 | 43.29 | 0.115 | 细胞核 |
| <i>TaDUF642</i> -c2-5D | TraesCS5D03G1036900.1 | 397 | 41.66 | 5D | 9.07 | 37.92 | 0.105 | 细胞核 |
| <i>TaDUF642</i> -d1-7B | TraesCS7B03G0947600.2 | 365 | 40.09 | 7B | 7.7 | 31.44 | 0.008 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -d2-7D | TraesCS7D03G1049200.1 | 365 | 39.94 | 7D | 8.19 | 36.62 | -0.029 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -d3-7A | TraesCS7A03G1099200.1 | 365 | 39.9 | 7A | 6.55 | 33.07 | -0.006 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -e1-2B | TraesCS2B03G1119300.1 | 385 | 39.21 | 2B | 5.49 | 31.1 | 0.052 | 细胞膜、细胞 壁、叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -e2-2A | TraesCS2A03G1007100.2 | 377 | 40.28 | 2A | 6.49 | 36.46 | -0.111 | 细胞膜 |
| <i>TaDUF642</i> -e3-2B | TraesCS2B03G0950600.1 | 379 | 40.45 | 2B | 4.67 | 41.38 | -0.004 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -e4-2D | TraesCS2D03G0799100.1 | 377 | 40.64 | 2D | 9 | 42.96 | -0.015 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -e5-2A | TraesCS2A03G0858200.1 | 379 | 40.14 | 2A | 5.17 | 40.65 | -0.181 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -e6-5B | TraesCS5B03G0975100.1 | 370 | 39.57 | 5B | 8.21 | 39.08 | 0.054 | 细胞壁、叶绿 体 |
| <i>TaDUF642</i> -e7-5D | TraesCS5D03G0883900.1 | 370 | 39.65 | 5D | 8.46 | 40.42 | 0.07 | 细胞壁、叶绿 体 |
| <i>TaDUF642</i> -e8-5A | TraesCS5A03G0924200.1 | 370 | 39.6 | 5A | 8.45 | 39.04 | 0.041 | 细胞壁、叶绿 体 |
| <i>TaDUF642</i> -e9-2D | TraesCS2D03G0799400.1 | 375 | 40.42 | 2D | 8.72 | 38.27 | 0.005 | 细胞壁 |
| <i>TaDUF642</i> -e10-2B | TraesCS2B03G0950900.1 | 379 | 40.56 | 2B | 4.81 | 45.98 | -0.033 | 细胞质 |
| <i>TaDUF642</i> -e11-2A | TraesCS2A03G0858400.1 | 379 | 40.28 | 2A | 5.18 | 42.35 | -0.194 | 细胞壁、叶绿 体 |
| <i>TaDUF642</i> -e12-2B | TraesCS2B03G0950400.1 | 377 | 40.35 | 2B | 6.59 | 36.99 | -0.131 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -e13-2D | TraesCS2D03G0798800.1 | 377 | 40.81 | 2D | 8.77 | 38.72 | -0.038 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -e14-2A | TraesCS2A03G0858000.1 | 379 | 40.2 | 2A | 5.17 | 42.7 | -0.175 | 细胞壁、叶绿 体 |
| <i>TaDUF642</i> -e15-2B | TraesCS2B03G0951000.1 | 358 | 38.47 | 2B | 6.68 | 40.53 | -0.21 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -e16-2D | TraesCS2D03G0799600.1 | 307 | 32.88 | 2D | 6.23 | 34.07 | -0.118 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -e17-2A | TraesCS2A03G0858500.1 | 377 | 40.26 | 2A | 6.07 | 34.09 | -0.09 | 叶绿体 |

Continued

| | | | | | | | | |
|-------------------------|-----------------------|-----|-------|----|------|-------|--------|-----|
| <i>TaDUF642</i> -e18-2A | TraesCS2A03G0860100.1 | 378 | 40.37 | 2A | 5.85 | 33.34 | -0.106 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -e19-2D | TraesCS2D03G0800100.1 | 373 | 39.96 | 2D | 6.64 | 36.24 | 0.036 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -e20-2B | TraesCS2B03G0951100.1 | 416 | 42.9 | 2B | 5.51 | 34.84 | 0.006 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -e21-2B | TraesCS2B03G1155900.1 | 373 | 40.15 | 2B | 6.46 | 37.61 | 0.043 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -e22-2D | TraesCS2D03G0974400.1 | 373 | 40.19 | 2D | 7.21 | 41.07 | 0.005 | 叶绿体 |
| <i>TaDUF642</i> -e23-2A | TraesCS2A03G1034000.1 | 379 | 40.64 | 2A | 4.94 | 47.51 | -0.098 | 叶绿体 |

3.3. *TaDUF642* 基因保守性分析

将搜索到的 15 个 Motif 命名为 motif1~motif15, 基序的宽度从 6 到 42 不等, 绘制 34 个 *TaDUF642* 蛋白序列的基序分布(图 2)。结果显示, 同一亚组的 *TaDUF642* 蛋白具有相似的基序组成, 例如, *TaDUF642*-a3-3A、*TaDUF642*-a2-3B 和 *TaDUF642*-a1-3D 的氨基酸序列具有高度相似性。另外, 除 *TaDUF642*-b1-6D 外, 在所有的 *TaDUF642* 序列中都识别到了 motif4。基因结构分析显示, 同一亚组的 *TaDUF642* 蛋白基因结构也具有相似性, 且大部分的 *TaDUF642* 序列两端都具有 UTR 非编码区(图 2)。*TaDUF642* 家族保守基序和基因结构具有相似性, 说明 *TaDUF642* 家族的在进化上较为保守。

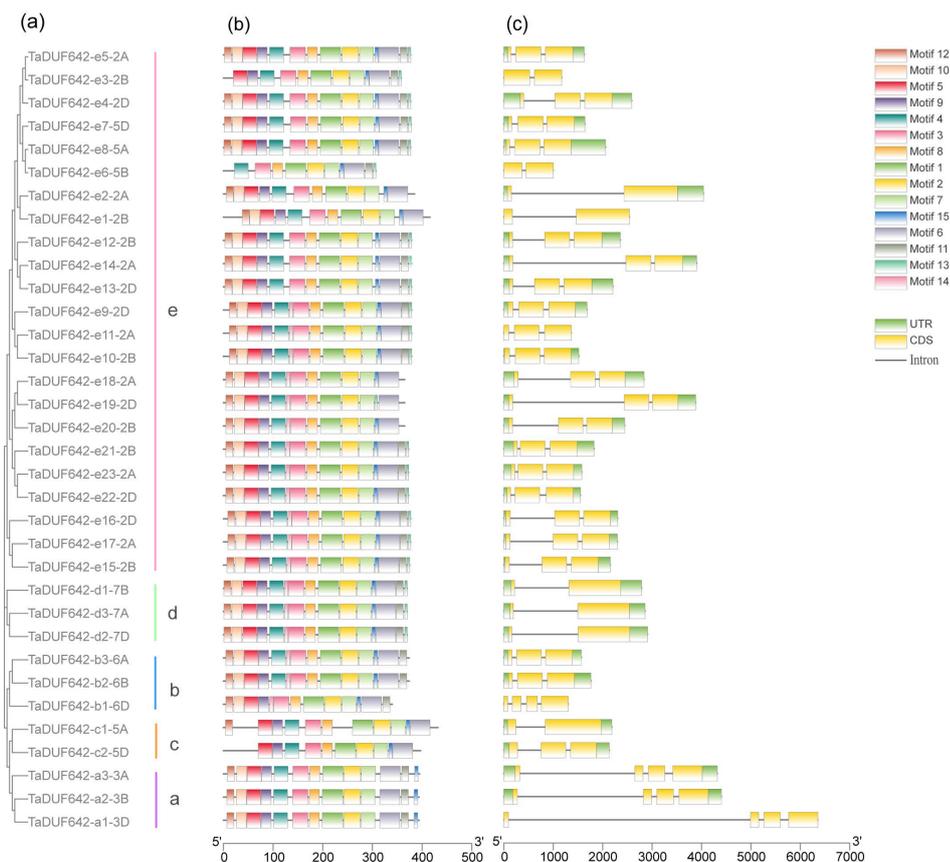


Figure 2. Conserved gene sequence and gene structure of *TaDUF642* genes. (a) Phylogenetic tree of *TaDUF642* family; (b) Motif analysis of *TaDUF642* family; (c) Gene structure of *TaDUF642* family

图 2. *TaDUF642* 基因的保守序列和基因结构。(a) *TaDUF642* 家族系统发育树; (b) *TaDUF642* 家族 motif 分析; (c) *TaDUF642* 家族基因结构

3.4. *TaDUF642* 基因启动子顺式作用元件鉴定

对 PlantCARE 预测的顺式元件进行可视化分析(图 3), 可将鉴定到的 791 个顺式元分为三类: 生长发育、激素应答和生物/非生物胁迫, 其数量分别为 192 (24.3%)、287 (36.3%)和 312 (39.4%)个, 相应的调控因子种类分别为 14、8 和 25 种。其中, 有较多的光反应元件(G-box、Sp1、Box II、GATA-motif、I-box、GT1-motif、Box 4、AE-box、TCCC-motif、ATCT-motif、TCT-motif、GATT-motif、GTGGC-motif、ATC-motifchs-CMA2a、Gap-box、GA-motif、ACE、chs-CMA1a、L-box、MRE)。分布最广的顺式作用元件是光反应元件 G-box (88.2%), 其次是脱落酸反应元件 ABRE (82.3%), 茉莉酸甲酯反应元件 CGTCA-motif (76.5%)和 TGACG-motif (76.5%)分布也较为广泛。启动子分析显示光反应元件广泛分布, 这与亚细胞定位预测反映的大多数基因定位在叶绿体相一致。

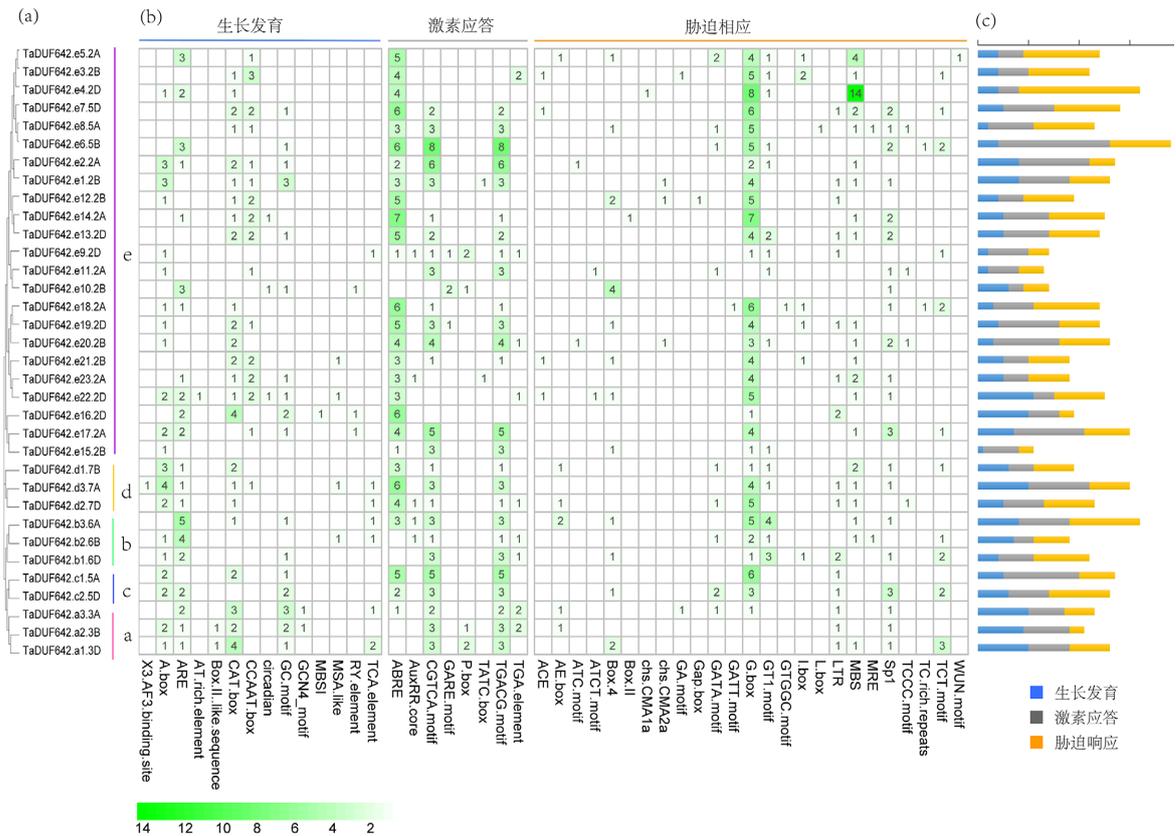


Figure 3. Cis-element analysis of *TaDUF642* genes. (a) Phylogenetic tree of *TaDUF642* family; (b) The cis-acting element of *TaDUF642* genes; (c) Statistical map of cis-elements of *TaDUF642* genes

图 3. *TaDUF642* 基因的顺式作用元件分析。(a) *TaDUF642* 家族系统发育树; (b) *TaDUF642* 基因顺式作用元件; (c) *TaDUF642* 基因顺式作用元件

3.5. *TaDUF642* 基因多条件转录组分析

从 NCBI 下载的转录组数据分为三类: 生长发育、非生物胁迫和生物胁迫。不同组别中的基因表达量明显不同。在生长发育阶段(图 4), 除 *TaDUF642-e2-2A*、*TaDUF642-e6-5B* 外, 其余基因在各时期均有表达, 且大多数基因在苗期、三叶期和分蘖期的根中都有表达。*TaDUF642-a1-3D*、*TaDUF642-a2-3B*、*TaDUF642-a3-3A*、*TaDUF642-c2-5D*、*TaDUF642-d1-7B*、*TaDUF642-d2-7D* 和 *TaDUF642-d3-7A* 基因在苗期、三叶期和分蘖期中高表达。group a 和 group d 中的基因在胚芽鞘、叶片、茎分生组织和根分生组

织中的表达量相对更高。

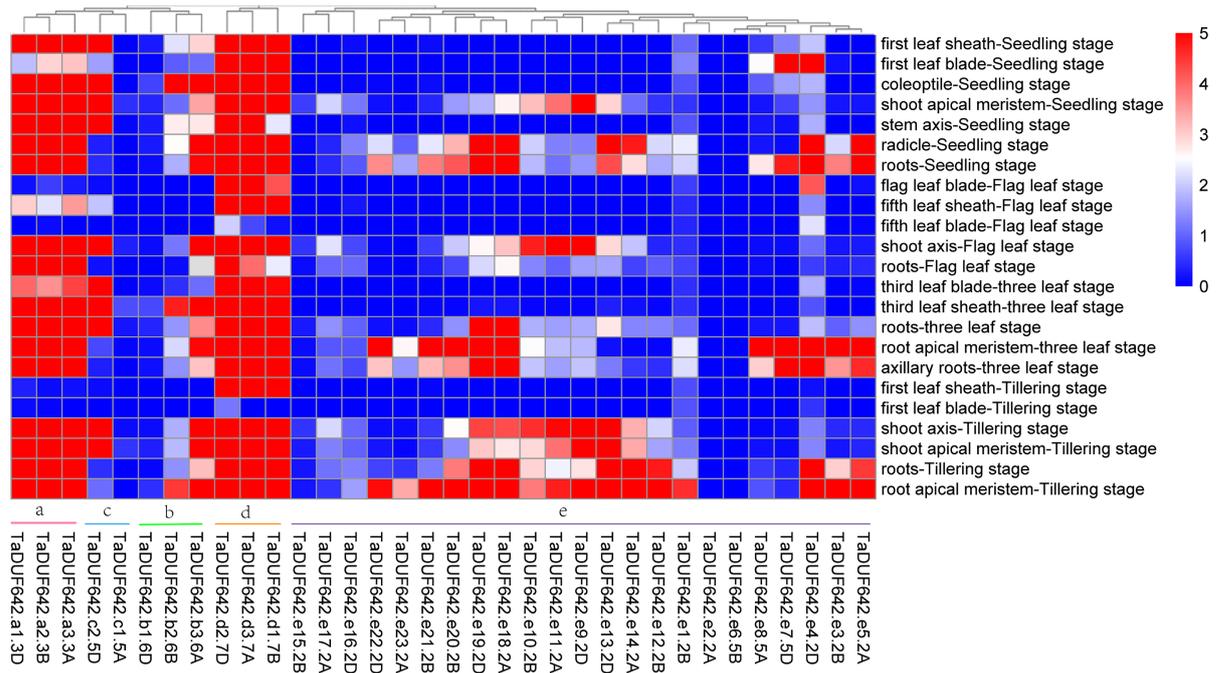


Figure 4. Transcriptome analysis of *TaDUF642* genes under growth and development

图 4. *TaDUF642* 基因在生长发育阶段的转录组分析

对于非生物胁迫(图 5), group d 中的基因在多种胁迫处理下有较高的表达量。在 PEG6000 处理下, group d 中三个基因表达良好, 与对照组相比, Gemmiza 10 品种小麦上调表达, TAM107 则下调。在干旱和热胁迫下, 与对照组相比, group d 中的基因大多下调表达, *TaDUF642-e7-5D* 和 *TaDUF642-e8-5A* 基因表达量上调。在寒冷胁迫下, 与对照组相比, group d 组中三个基因表达量上调, *TaDUF642-e4-2D* 基因表达量下调。在磷饥饿处理下, 与对照组相比, group a 和 group d 中的基因表达量相对较高, 且有明显差异。

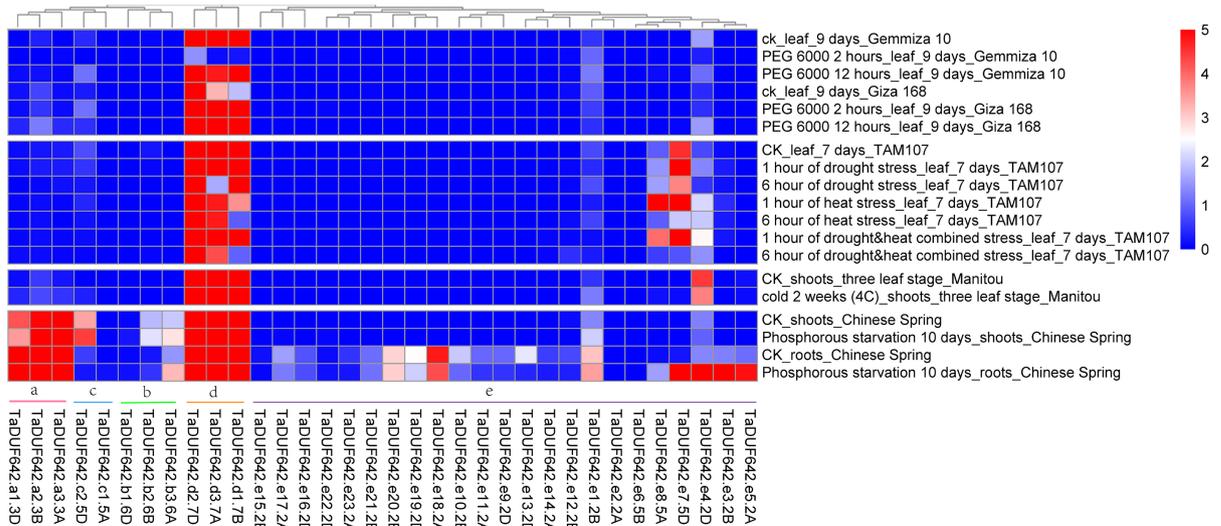


Figure 5. Transcriptome analysis of *TaDUF642* genes under abiotic stress

图 5. *TaDUF642* 基因在非生物胁迫下的转录组分析

对于生物胁迫(图 6), 在禾谷镰刀菌处理下, group a 和 group d 中的基因、*TaDUF642-b3-6A* 和 *TaDUF642-c2-5D* 表达量较高, 且与对照组相比差异明显, 说明其功能与禾谷镰刀菌的侵染有关。在条锈菌处理下, group a 和 group d 中的基因和 *TaDUF642-e4-2D* 表达良好, 且与对照组相比具有一定差异, 说明这些基因参与了小麦响应条锈菌侵染过程的调控。在白粉菌处理下, 与对照组相比, group a 和 group d 中的基因大多表达量下调, 说明其功能可能与白粉菌 E09 侵染有关。

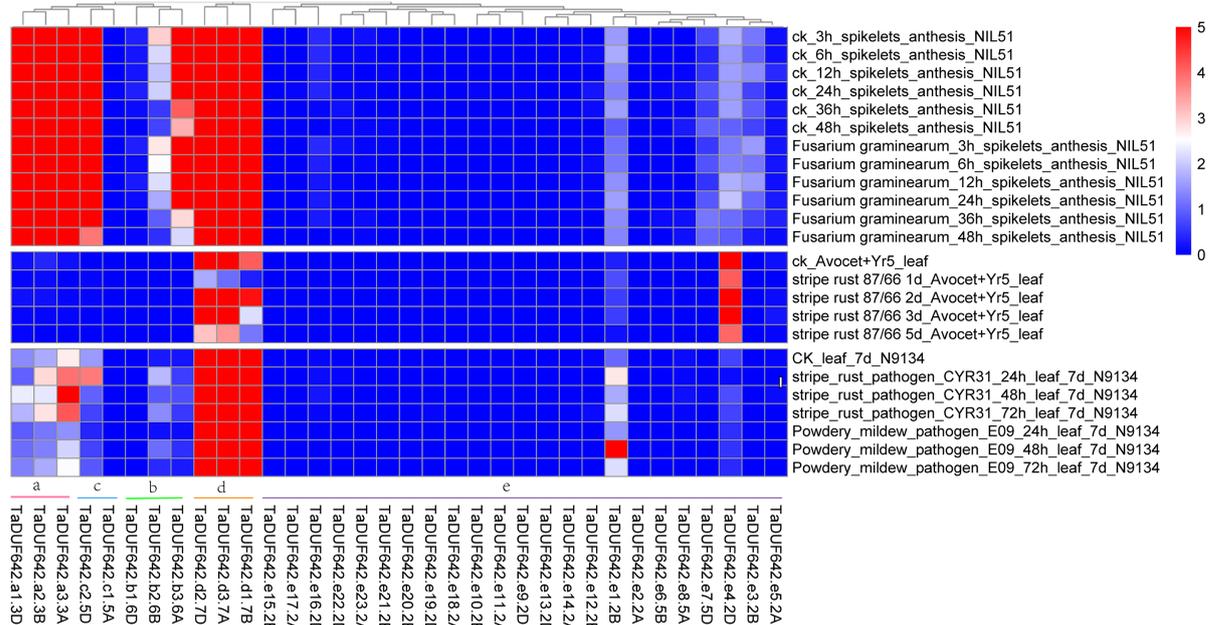


Figure 6. Transcriptome analysis of *TaDUF642* genes under biological stress
 图 6. *TaDUF642* 基因在生物胁迫下的转录组分析

4. 讨论

通过生物信息学技术鉴定得到 34 个 *TaDUF642* 基因, 保守性较高, 且大多定位在叶绿体上。在启动子顺式作用元件分析中, *TaDUF642-e4-2D* 基因启动子中含有较多的顺式元件 MBS (14 个), 表明该基因可能与干旱胁迫的调控有着很大关系。另外, 干旱诱导元件 MBS 在玉米 DUF642 家族基因中也分布广泛, 表明 *TaDUF642* 基因家族成员可能在小麦响应非生物胁迫中具有潜在功能。

关于 *TaDUF642* 基因的表达模式, 不同组别的基因表达水平有所差异。在生长发育阶段, group a 和 group d 中的基因在胚芽鞘、叶、茎和根中均有较高的表达量, 其功能可能与小麦多个组织器官的生长发育相关。在拟南芥的研究中发现, *At4g32460* 和 *At5g11420* 基因编码的 DUF642 蛋白在植物的生长发育过程中对 PME 的活性起到调控作用, *At4g32460* 基因对细胞内 PME 活性起到正向调控作用, 可能对种子的萌发有重要影响[5]。在 *TaDUF642* 基因家族中, group d 中三个基因与 *At4g32460* 和 *At5g11420* 有较高的同源性, 它们可能与果胶的去甲基化有关。

对 group d 中的基因在非生物胁迫下的表达量进行分析, 该组基因可能参与小麦抵抗干旱、寒冷和磷饥饿等多种功能。在水稻的研究中发现, *Os04g0494900* 可能是野生型水稻参与抗铝毒活动较为重要的基因[24], 并且研究发现玉米 DUF642 家族中也存在与抗铝毒胁迫相关的基因[13]。在 *TaDUF642* 基因家族中, *TaDUF642-e11-2A*、*TaDUF642-e10-2B* 和 *TaDUF642-e9-2D* 三个基因与 *Os04g0494900* 同源性较高, 它们可能与小麦抗铝毒胁迫相关。

另外, group a 和 group d 中的基因在禾谷镰刀菌、条锈菌和白粉菌处理下均具有较高的表达量, 且与对照组相比存在差异, 这些基因在小麦抵御生物胁迫的过程中发挥着重要的影响。在拟南芥的研究中发现, *At5g25460* 和 *At3g08030* 基因受细菌侵染和害虫取食诱导表达[8], 而 group d 中三个基因与 *At5g25460* 同源性较高, *TaDUF642-c2-5D* 与 *At3g08030* 同源性较高, 这些基因在生物胁迫下都表现出对植物较大的影响。*At1g80240* 和 *At5g25460* 参与了细胞壁的形成, 对细胞生长和植物发育有重要作用[25], 而 group d 中三个基因与 *At1g80240* 和 *At5g25460* 同源性较高, 这与转录组分析显示 group d 中三个基因在小麦生长发育多个时期有较高的表达量相一致。

5. 结论

本研究通过生物信息学方法对小麦 *DUF642* 基因家族进行全面的分析。共得到 34 个 *TaDUF642* 基因, 而且小麦 *DUF642* 基因在非生物和生物胁迫中发挥着重要的作用, 为进一步挖掘 *DUF642* 基因的功能提供了参考依据。

基金项目

中国烟草总公司科技项目(110202102040)和湖北省烟草公司科技项目(027Y2020-006)。

参考文献

- [1] 刘志勇, 王道文, 张爱民, 等. 小麦育种行业创新现状与发展趋势[J]. 植物遗传资源学报, 2018, 19(3): 430-434.
- [2] Vázquez-Lobo, A., Roujol, D., Zúñiga-Sánchez, E., et al. (2012) The Highly Conserved Spermatophyte Cell Wall DUF642 Protein Family: Phylogeny and First Evidence of Interaction with Cell Wall Polysaccharides *in Vitro*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **63**, 510-520. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.02.001>
- [3] Cruz-Valderrama, J.E., Gómez-Maqueo, X., Salazar-Irribé, A., et al. (2019) Overview of the Role of Cell Wall DUF642 Proteins in Plant Development. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article No. 3333. <https://doi.org/10.3390/ijms20133333>
- [4] Salazar-Iribé, A., Zúñiga-Sánchez, E., Gamboa-deBuen, A., et al. (2017) Cell Wall Localization of Two DUF642 Proteins, *BIIDX1* and *TEEBE*, during *Meloidogyne incognita* Early Inoculation. *The Plant Pathology Journal*, **33**, 614-618. <https://doi.org/10.5423/PPJ.NT.05.2017.0101>
- [5] Zúñiga-Sánchez, E., Soriano, D., Martínez-Barajas, E., et al. (2014) *BIIDX1*, the *At4g32460* *DUF642* Gene, Is Involved in Pectin Methyl Esterase Regulation during *Arabidopsis thaliana* Seed Germination and Plant Development. *BMC Plant Biology*, **14**, Article No. 338. <https://doi.org/10.1186/s12870-014-0338-8>
- [6] Salazar-Iribé, A., Agredano-Moreno, L.T., Zúñiga-Sánchez, E., et al. (2016) The Cell Wall DUF642 *At2g41800* (*TEB*) Protein Is Involved in Hypocotyl Cell Elongation. *Plant Science*, **253**, 206-214. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.10.007>
- [7] Palmeros-Suárez, P.A., Massange-Sánchez, J.A., Sánchez-Segura, L., et al. (2017) *AhDGR2*, an Amaranth Abiotic Stress-Induced DUF642 Protein Gene, Modifies Cell Wall Structure and Composition and Causes Salt and ABA Hyper-Sensitivity in Transgenic *Arabidopsis*. *Planta*, **245**, 623-640. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2635-y>
- [8] 王晓睿, 胡琴, 杜雪竹, 等. 水稻 *DUF642* 家族基因的鉴定及在非生物逆境中的表达分析[J]. 湖北大学学报(自然科学版), 2022, 44(1): 14-23.
- [9] 刘天宇, 杨永娟, 赵卓, 等. 玉米 *DUF642* 基因家族的鉴定和分析[J]. 分子植物育种, 2018, 16(21): 6888-6898.
- [10] Hu, J., Barlet, X., Deslandes, L., et al. (2008) Transcriptional Responses of *Arabidopsis thaliana* during Wilt Disease Caused by the Soil-Borne Phytopathogenic Bacterium, *Ralstonia solanacearum*. *PLOS ONE*, **3**, e2589. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002589>
- [11] Depuydt, S., Trenkamp, S., Elftieh, S., et al. (2009) An Integrated Genomics Approach to Define Niche Establishment by *Rhodococcus fascians*. *Plant Physiology*, **149**, 1366-1386. <https://doi.org/10.1104/pp.108.131805>
- [12] 解美霞, 杨君, 王国宁, 等. 基于表达谱分析陆地棉 *DUF642* 基因家族抗逆功能[J]. 棉花学报, 2019, 31(6): 493-504.
- [13] Xie, X.Q. and Wang, Y.J. (2016) *VqDUF642*, a Gene Isolated from the Chinese Grape *Vitisquinquangularis*, Is Involved in Berry Development and Pathogen Resistance. *Planta*, **244**, 1075-1094.

- <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2569-4>
- [14] Punta, M., Coggill, P.C., Eberhardt, R.Y., *et al.* (2012) The Pfam Protein Families Database. *Nucleic Acids Research*, **40**, 290-301. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr1065>
- [15] Thompson, J.D., Higgins, D.G. and Gibson, T.J. (1994) CLUSTAL W: Improving the Sensitivity of Progressive Multiple Sequence Alignment through Sequence Weighting, Position-Specific Gap Penalties and Weight Matrix Choice. *Nucleic Acids Research*, **22**, 4673-4680. <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>
- [16] Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, **33**, 1870-1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- [17] Wilkins, M.R., Gasteiger, E., Bairoch, A., *et al.* (1999) Protein Identification and Analysis Tools in the ExPASyserver. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, **112**, 531-552.
- [18] Chou, K.C. and Shen, H.B. (2010) Cell-PLOC 2.0: An Improved Package of Web-Servers for Predicting Subcellular Localization of Proteins in Various Organisms. *Natural Science*, **2**, 1090-1103. <https://doi.org/10.4236/ns.2010.210136>
- [19] Bailey, T.L., Boden, M., Buske, F.A., *et al.* (2009) MEME SUITE: Tools for Motif Discovery and Searching. *Nucleic Acids Research*, **37**, W202-W208. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp335>
- [20] Chen, C.J., Chen, H., Zhang, Y., *et al.* (2020) TBtools: An Integrative Toolkit Developed for Interactive Analyses of Big Biological Data. *Molecular Plant*, **13**, 1194-1202. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.06.009>
- [21] Zhu, Y.X., Yang, L., Liu, N., *et al.* (2019) Genome-Wide Identification, Structure Characterization, and Expression Pattern Profiling of Aquaporin Gene Family in Cucumber. *BMC Plant Biology*, **19**, Article No. 345. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1953-1>
- [22] Trapnell, C., Roberts, A., Goff, L., *et al.* (2012) Differential Gene and Transcript Expression Analysis of RNA-seq Experiments with TopHat and Cufflinks. *Nature Protocols*, **7**, 562-578. <https://doi.org/10.1038/nprot.2012.016>
- [23] IWGSC, Rudi, A., Kelly, E., *et al.* (2018) Shifting the Limits in Wheat Research and Breeding Using a Fully Annotated Reference Genome. *Science*, **361**, eaar7191.
- [24] Yamaji, N., Huang, C.F., Nagao, S., *et al.* (2009) A Zinc Finger Transcription Factor ART1 Regulates Multiple Genes Implicated in Aluminum Tolerance in Rice. *The Plant Cell*, **21**, 3339-3349. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.070771>
- [25] Gao, Y.S., Badejo, A.A., Sawa, Y., *et al.* (2012) Analysis of Two L-Galactono-1,4-lactone-responsive Genes with Complementary Expression During the Development of *Arabidopsis thaliana*. *Plant & Cell Physiology*, **53**, 592-601. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcs014>