

毛竹 GLP 基因家族全基因组鉴定及其表达调控研究

狄小琳 孙化雨 朱成磊 杨克彬 高志民*

(国际竹藤中心竹藤资源基因科学与基因产业化研究所, 国家林业和草原局/北京竹藤科学与技术重点开放实验室 北京 100102)

摘要:【目的】毛竹是重要的笋材两用竹种, 研究其速生过程中细胞壁交联相关基因的功能对毛竹开发利用有重要价值。萌发素蛋白和类萌发素蛋白 (Germin-like Proteins, GLP) 具有与细胞壁交联作用, 因此探究毛竹 GLP 基因家族成员的分子特征及其在细胞壁交联中的功能, 对于揭示其在竹笋品质和竹材质量形成中的作用机制具有重要的理论价值和现实意义。【方法】本研究以毛竹为研究对象, 利用生物信息学与分子生物学等方法对毛竹 GLP 基因家族成员进行了鉴定和系统分析, 基于毛竹快速生长相关的 RNA-Seq 数据和实时荧光定量 PCR (qPCR) 技术分析 GLPs 的表达模式, 借助酵母单杂交试验验证转录因子 MYB 与 GLPs 的调控关系, 并对关键 PeGLP8 进行了初步功能研究。【结果】在毛竹中共鉴定到 103 个 GLP 家族成员, 依次命名为 PeGLP1-PeGLP103, 大多数 PeGLPs 编码的蛋白结构域具有较高的保守性, 包括三个 Box 结构域。启动子顺式作用元件预测结果显示 PeGLPs 基因存在多种激素和逆境响应元件, 如茉莉酸甲酯响应元件、低温响应元件等, 共 101 个成员的启动子序列中包含 MYB 结合位点 GAMYB, 推测 PeGLPs 可能参与毛竹笋的速生过程中次生细胞壁合成。共线性分析显示 Ka/Ks 值大部分小于 1.0, 说明在进化过程中经历了纯化选择。基于对毛竹、水稻和拟南芥中 GLP 家族成员的系统发育树分析发现, 不同物种的 GLP 家族成员在进化上存在一定的差异, 它们被分成六个亚家族, Group1 亚家族中 PeGLPs 成员最多。基于 RNA-Seq 数据分析显示, PeGLPs 在毛竹不同组织和不同高度笋中表达存在这一定的差异, 其中 PeGLP8 显著表达, 推测 PeGLP8 在毛竹不同组织和不同发育时期发挥着重要的作用。酵母单杂交试验结果证实, PeMYB103.1 能够与 PeGLP8 启动子结合; 实时荧光定量 PCR 结果显示 PeGLP8 和 PeMYB103.1 具有相似的表达模式, 同时酵母单杂交试验结果验证了 PeMYB103.1 能够与 PeGLP8 启动子中 GAMYB 元件结合, 推测 PeMYB103.1 可能参与 PeGLP8 的表达调控。此外, 以 PeGLP8 为诱饵, 通过酵母双杂筛库获得 17 种蛋白质, 其中包括细胞骨架蛋白和泛素化连接酶 E3, 推测 PeGLPs 参与调控细胞壁的交联是一个复杂的调控网络。【结论】本研究共鉴定出 103 个 PeGLPs, PeGLP8 在毛竹笋的不同发育时期表达差异显著, 推测 PeGLP8 通过表达影响细胞壁的交联, 进而影响毛竹竹笋品质和竹材质量。

关键词: 毛竹; 类萌发素蛋白; 细胞壁交联; 转录调控