

王化敦, 谈晶晶, 姚金保, 等. 小麦 SUMO 化修饰系统各基因家族分析[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(1): 1-10.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2018.01.001

小麦 SUMO 化修饰系统各基因家族分析

王化敦¹, 谈晶晶², 姚金保¹, 马鸿翔¹

(1. 江苏省农业科学院粮食作物研究所/江苏省农业生物学重点实验室, 江苏 南京 210014; 2. 扬州大学生物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009)

摘要: 分别利用拟南芥和水稻中 SUMO 化修饰系统各基因家族成员的登录号和基因序列, 在小麦基因组数据库中进行同源性比对分析, 获得 55 个编码 SUMO 化修饰系统各家族的基因, 划分为 21 个部分同源基因(*Homoeologues*)组, 并构建了系统进化树。进一步利用小麦转录组数据考查了 SUMO 化修饰系统各基因家族成员在不同时期、不同器官和组织的表达模式。结果表明, 小麦 SUMO 化修饰系统各基因家族在不同时期的各器官和组织中均有表达, 但在各基因家族内部成员之间和各基因家族之间的时空表达模式具有明显差异。

关键词: 小麦; SUMO 化修饰; 器官和组织; 基因表达

中图分类号: S512.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2018)01-0001-10

Characterization of the gene families of SUMOylation in wheat

WANG Hua-dun¹, TAN Jing-jing², YAO Jin-bao¹, MA Hong-xiang¹

(1. Institute of Food Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Jiangsu Provincial Key Laboratory for Agrobiolgy, Nanjing 210014, China; 2. College of Bio-science and Bio-technology of Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: The gene families of SUMOylation system in wheat were isolated by homology and blast analysis using the Arabidopsis and rice related genes. As a result, a total of 55 candidate genes were got and divided into 21 homoeologue groups and phylogenetic tree was constructed according to protein sequences. The expression patterns of these genes in different developmental stage and different organs and tissues of the wheat were analyzed using the published transcriptome data. The results showed that all the gene families were expressed in organs and tissues during different developmental stages, but the temporal and spatial expression patterns had significant differences among genes in the same gene family or different gene families.

Key words: wheat; SUMOylation; organ and tissue; gene expression

SUMO (Small ubiquitin-like modifier) 化修饰是近年来发现的一种广泛存在的蛋白质翻译后修饰形式, 因其蛋白结构和作用机制与泛素相似而称为小泛素相关修饰物。与泛素作用机制相似, SUMO 化修饰也是通过一系列酶促反应最终将 SUMO 底物与靶蛋白结合, 参与 SUMO 化修饰的各组分包括

SUMO 修饰物、激活酶 (*E1*)、结合酶 (*E2*)、连接酶 (*E3*) 和 SUMO 特异性蛋白酶 (*Protease*), 通过 SUMO 前体的成熟、激活、结合、连接和去结合等过程实现了对靶蛋白的生物学修饰^[1]。

植物中第一个 SUMO 同源基因是番茄在病原真菌 (*Trichoderma viride*) 侵染条件下受乙烯诱导的木聚糖酶的互作蛋白 T-SUMO^[2]。模式植物拟南芥中存在 9 个 SUMO 修饰物编码基因 (*SUM1*~*SUM9*), 其中 *SUM9* 为假基因, 基因表达分析发现只有 *SUM1*、*SUM2*、*SUM3* 和 *SUM5* 等 4 个基因表达, 并且 *SUM1* 和 *SUM2* 具有相对较高的表达丰度, 免疫杂交结果表明 *SUM1* 和 *SUM2* 作为修饰底物参与的 SUMO 化修饰与 *SUM3* 作为修饰底物参与的 SUMO 化修饰对热

收稿日期: 2017-08-15

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31501819); 国家现代农业产业技术体系项目 (CARS-3)

作者简介: 王化敦 (1986-), 山东菏泽人, 博士, 助理研究员, 主要从事小麦养分吸收利用的分子机制研究。(E-mail) hdwang@jaas.ac.cn

通讯作者: 马鸿翔, (E-mail) hxma@jaas.ac.cn@jaas.ac.cn

激、双氧水、乙醇等胁迫具有明显不同的响应模式^[3]。在拟南芥 SUMO 化修饰途径中,由单基因编码的激活酶大亚基 *SAE2* 或结合酶 *SCE1* 发生突变均会发生胚性致死,*SUM1* 和 *SUM2* 基因发生双突变也会发生胚性致死^[4],给 SUMO 化修饰的研究带来了不便。而在 SUMO 化修饰系统各组分中,*E3* 连接酶在很大程度上决定了靶基因的特异性,并且该基因突变没有造成致死突变^[4,5]。进一步研究发现,由连接酶 *SIZ1* 介导的 SUM1 和 SUM2 对靶蛋白的修饰是植物体内 SUMO 化修饰的重要形式^[6]。因此,研究者们以连接酶为切入点,对 SUMO 化修饰在植物体内的功能开展了较为广泛的研究^[7-9]。根据目前的报道,SUMO 化修饰广泛存在于植物体生长与发育^[10-12]、非生物胁迫(冷、热、干旱及盐胁迫等)^[13-16]、激素应答^[17-19]及养分信号转导^[20-22]等过程,并鉴定了多个受 SUMO 化修饰调控的关键基因。

SUMO 化修饰系统通过 SUMO 修饰物与靶蛋白的结合(去结合),可以阻止靶蛋白与其他作用蛋白结合,介导靶蛋白与其他作用蛋白结合或者改变靶蛋白的高级结构,进而影响靶蛋白的功能^[8,23]。随着基因组测序物种的增加,不同物种中均发现存在 SUMO 化修饰系统。已在水稻、二穗短柄草、高粱、葡萄、西红柿、杨树、苹果、玉米、大豆等多个植物基因组中报道了 SUMO 化修饰系统各组分及其功能^[24-29]。本研究利用逐步完善的小麦基因组数据,鉴定了小麦中 SUMO 化修饰各基因家族成员,并进一步利用小麦转录组数据分析各基因家族在不同时期、不同器官和组织中的表达模式,为小麦中 SUMO 化修饰各基因家族的功能研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 小麦 SUMO 化修饰系统各基因家族的发掘与分析

根据已经报道的拟南芥和水稻中的 SUMO 化修饰系统各基因家族登录号及蛋白质氨基酸序列,分别利用 Ensembl Biomart 工具(<https://plants.ensembl.org/biomart/martview>)和 BLAST 比对分析(https://plants.ensembl.org/Triticum_aestivum/Tools/Blast)从小麦基因组中获取 SUMO 化修饰系统各基因家族,去除 2 种途径获得的冗余基因。其中 2 个基因(*TRIAE_CS42_IDS_TGACv1_080807_AA0253990*、*TRIAE_CS42_7BS_TGACv1_593541_AA1952390*)由于编码产物长度

(194 aa, 188 aa)明显低于该基因家族其他成员编码产物,从候选基因中去除。利用 Pfam 工具(<http://pfam.xfam.org>)分析蛋白结构域,进一步验证该基因与拟南芥和水稻中相应基因的同源性。

对于小麦中发现的未在拟南芥和水稻中给予名称的基因,根据所属基因家族及其同源基因进行命名,以“(基因名称)”形式表示。参考 Wan 等^[30]对小麦基因组中氨基酸转运蛋白家族的分析,将编码蛋白质氨基酸序列相似性高于 90% 的基因认为是存在于小麦 A、B、D 亚基因组中相对应的部分同源基因(*Homoeologues*)。由于 *TRIAE_CS42_U_TGACv1_641662_AA2100790* 与部分同源基因 *TRIAE_CS42_5BL_TGACv1_405282_AA1323990* 和 *TRIAE_CS42_5DL_TGACv1_436222_AA1459270* 编码的蛋白质氨基酸序列相似性分别为 85% 和 90%,将其单独作为一个新的家族成员 *ULP2c*。

1.2 基因表达数据提取

根据 Choulet 等^[31]和 Pfeifer 等^[32]在 Science 上报道的中国春在不同时期、不同器官和组织的转录组数据(ERP004505; <https://urgi.versailles.inra.fr/files/RNASeqWheat/>),利用 Tophat2 程序^[33]将测序序列比对到小麦参考基因组,基于已注释的参考基因信息,进一步利用 Cuffquant 程序^[34]对基因表达进行定量分析。最后,利用 Cuffnorm 程序^[34]对不同样本的表达量进行标准化处理,获得基因的表达丰度(FPKM, expected fragments per kilobase of transcript per million fragments sequenced)。从获得的基因组表达数据中提取 SUMO 化修饰系统各基因家族的表达数据,样品信息见表 1。

1.3 进化树构建、数据分析与 Heatmap 作图

利用软件 MEGA5 对不同物种中 SUMO 化修饰各家族基因编码蛋白质氨基酸序列分别进行多序列比对分析,构建每一家族基因的进化树,其中小麦各基因家族分别从部分同源基因(*Homoeologues*)组中选择一个成员用于构建进化树(除 *TaSUM2* 和 *TaULP2b* 选择位于 B 基因组成员外,其余各基因均选择位于 A 基因组成员)。

在 Excel 中进行数据分析,为便于比较分析 SUMO 化修饰系统各基因家族在同一器官或组织中的表达差异,以同一器官或组织中各基因的表达数据作为一个数据集,计算各基因表达数据的标准分数(*Z-score*)。分别以同一器官或组织中各基因表达数据的标准分数在 Matlab 软件中进行 Heatmap 作图。

表 1 小麦转录组数据样品信息

Table 1 Sample information of the wheat transcriptome data

样品名称	器官/组织	时期
Root Z10	根	苗期
Root Z13		三叶期
Root Z39		旗叶发生期
Leaf Z10	叶片	苗期
Leaf Z23		分蘖期
Leaf Z71		花后 2 d
Stem Z30	茎秆	穗长 1 cm
Stem Z32		拔节期(2 节)
Stem Z65		花期
Spike Z32	穗	拔节期(2 节)
Spike Z39		旗叶发生期
Spike Z65		花期
Grain Z71	种子	花后 2 d
Grain Z75		花后 14 d
Grain Z85		花后 30 d
TC 20DPA	转移细胞	花后 20 d
AL 20DPA	糊粉层	花后 20 d
SE 20DPA	淀粉胚乳	花后 20 d
SE 30DPA	淀粉胚乳	花后 30 d
AL.SE 30DPA	糊粉层(淀粉胚乳)	花后 30 d

表 2 小麦 SUMO 化修饰系统各基因家族

Table 2 Family members of SUMOylation system in wheat

蛋白质	基因	拟南芥基因登录号	水稻基因登录号	小麦基因登录号
类泛素修饰底物	<i>SUM1</i>	AT4G26840	LOC_Os01g68950	TRIAE_CS42_3AL_TGACv1_194462_AA0633500 TRIAE_CS42_3B_TGACv1_222748_AA0769950 TRIAE_CS42_2DS_TGACv1_177160_AA0567150
	<i>SUM2</i>	AT5G55160	LOC_Os01g68940	TRIAE_CS42_3B_TGACv1_222482_AA0765590 TRIAE_CS42_3DL_TGACv1_249661_AA0853720
	<i>SUM3</i>	AT5G55170	LOC_Os07g38690	TRIAE_CS42_3AL_TGACv1_194013_AA0624570 TRIAE_CS42_3DL_TGACv1_250480_AA0868920
	<i>SUM4</i>	AT5G48710		
	<i>SUM5</i>	AT2G32765		
	<i>SUM6</i>	AT5G48700		
	<i>SUM7</i>	AT5G55855		
	<i>SUM8</i>	N.A		
	<i>SUM9</i>	N.A		
	激活酶 (<i>E1</i>)	<i>SAE1a</i>	AT4G24940	LOC_Os11g30410
<i>SAE1b</i>		AT5G50580/AT5G50680		TRIAE_CS42_3AS_TGACv1_211054_AA0684040 TRIAE_CS42_3B_TGACv1_224871_AA0802510 TRIAE_CS42_3DS_TGACv1_272077_AA0914250
<i>SAE2</i>		AT2G21470	LOC_Os07g39780	TRIAE_CS42_2AS_TGACv1_115072_AA0370790 TRIAE_CS42_2BS_TGACv1_146568_AA0468370

2 结果与分析

2.1 小麦 SUMO 化修饰系统各基因家族成员的获得及进化树

根据拟南芥和水稻 SUMO 化修饰系统各基因家族成员,利用生物信息学分析,获得了小麦中 SUMO 化修饰系统各基因家族成员,共计 55 个基因(表 2)。除蛋白酶基因 *UPL2c* 外,其余 SUMO 化修饰系统各基因家族成员在小麦基因组中均含有部分同源基因(*Homologues*)组。其中,6 个成员分别含有 2 个部分同源基因,其余 14 个成员均含有 3 个部分同源基因。

在小麦 SUMO 化修饰系统中,SUMO 修饰物编码基因有 3 个(*SUM1~SUM3*),激活酶编码基因有 3 个(小亚基:*SAE1a* 和 *SAE1b*,大亚基:*SAE2*),结合酶编码基因有 3 个(*SCE1~SCE3*),连接酶编码基因有 5 个(*SIZ1~SIZ4*,*MMS21*),蛋白酶编码基因有 7 个(*ULP1a~ULP1d*,*ESD4*,*ULP2b*,*ULP2c*)。不同于拟南芥和水稻,小麦中未发现 *ULP2a* 基因,但含有 3 个新的基因,即 *SIZ3*、*SIZ4* 和 *UPL2c*。其中,新发现的连接酶编码基因 *SIZ3* 基因与 *SIZ1* 具有相对较高的序列相似性,*SIZ4* 基因与 *SIZ2* 基因具有相对较高的蛋白相似性。

续表 2 Continued 2

蛋白质	基因	拟南芥基因登录号	水稻基因登录号	小麦基因登录号	
结合酶 (<i>E2</i>)	<i>SCE1</i>	AT3G57870	LOC_Os03g03130	TRIAE_CS42_5AL_TGACv1_378109_AA1251260	
				TRIAE_CS42_4BL_TGACv1_322319_AA1070580	
				TRIAE_CS42_4DL_TGACv1_343504_AA1135560	
	<i>SCE2</i>		LOC_Os10g39120	TRIAE_CS42_1AL_TGACv1_000844_AA0020240	
				TRIAE_CS42_1BL_TGACv1_031377_AA0112840	
				TRIAE_CS42_1DL_TGACv1_062518_AA0215770	
	<i>SCE3</i>		LOC_Os04g49130	TRIAE_CS42_2AL_TGACv1_093366_AA0278620	
				TRIAE_CS42_2BL_TGACv1_129455_AA0384620	
				TRIAE_CS42_2DL_TGACv1_157918_AA0501690	
连接酶 (<i>E3</i>)	<i>SIZ1</i>	AT5G60410	LOC_Os05g03430	TRIAE_CS42_1AS_TGACv1_020185_AA0075430	
				TRIAE_CS42_1DS_TGACv1_080154_AA0241640	
				TRIAE_CS42_3AL_TGACv1_193610_AA0614960	
				TRIAE_CS42_3B_TGACv1_224572_AA0798130	
	(<i>SIZ3</i>)			TRIAE_CS42_3DL_TGACv1_249240_AA0842760	
				TRIAE_CS42_4AL_TGACv1_291362_AA0994190	
				TRIAE_CS42_4BS_TGACv1_328638_AA1091420	
	<i>SIZ2</i>		LOC_Os03g50980	TRIAE_CS42_4DS_TGACv1_361466_AA1168490	
				TRIAE_CS42_5AL_TGACv1_376034_AA1231050	
				TRIAE_CS42_5BL_TGACv1_407061_AA1353000	
	(<i>SIZ4</i>)			TRIAE_CS42_5DL_TGACv1_434271_AA1432930	
				TRIAE_CS42_1AL_TGACv1_000912_AA0021710	
				TRIAE_CS42_1BL_TGACv1_031243_AA0110250	
	蛋白酶 (<i>Protease</i>)	<i>ULP1a</i>	AT3G06910	LOC_Os03g29630	TRIAE_CS42_U_TGACv1_641891_AA2106760
					TRIAE_CS42_2AS_TGACv1_112889_AA0346800
TRIAE_CS42_2BS_TGACv1_147049_AA0477250					
<i>ULP1b</i>		AT4G00690	LOC_Os03g22400	TRIAE_CS42_2DS_TGACv1_179014_AA0603490	
				TRIAE_CS42_4AS_TGACv1_306328_AA1006360	
				TRIAE_CS42_4BS_TGACv1_330549_AA1108090	
<i>ULP1c</i>		AT1G10570	LOC_Os01g53630	TRIAE_CS42_4DL_TGACv1_343463_AA1134800	
				TRIAE_CS42_3AL_TGACv1_194477_AA0633750	
				TRIAE_CS42_3B_TGACv1_222581_AA0767230	
<i>ULP1d</i>		AT1G60220		TRIAE_CS42_3DL_TGACv1_250175_AA0863550	
				TRIAE_CS42_U_TGACv1_643195_AA2128780	
	TRIAE_CS42_7BS_TGACv1_594539_AA1957830				
<i>ESD4</i>	AT4G15880	LOC_Os01g25370	TRIAE_CS42_7DS_TGACv1_622093_AA2032580		
			TRIAE_CS42_3AS_TGACv1_213025_AA0704860		
			TRIAE_CS42_3B_TGACv1_222087_AA0757040		
<i>ULP2a</i>	AT4g33620		TRIAE_CS42_3DL_TGACv1_250175_AA0863550		
			TRIAE_CS42_U_TGACv1_643195_AA2128780		
			TRIAE_CS42_7BS_TGACv1_594539_AA1957830		
<i>ULP2b</i>	AT1G09730	LOC_Os05g11770	TRIAE_CS42_7DS_TGACv1_622093_AA2032580		
			TRIAE_CS42_5BL_TGACv1_405282_AA1323990		
			TRIAE_CS42_5DL_TGACv1_436222_AA1459270		
(<i>ULP2c</i>)				TRIAE_CS42_U_TGACv1_641662_AA2100790	

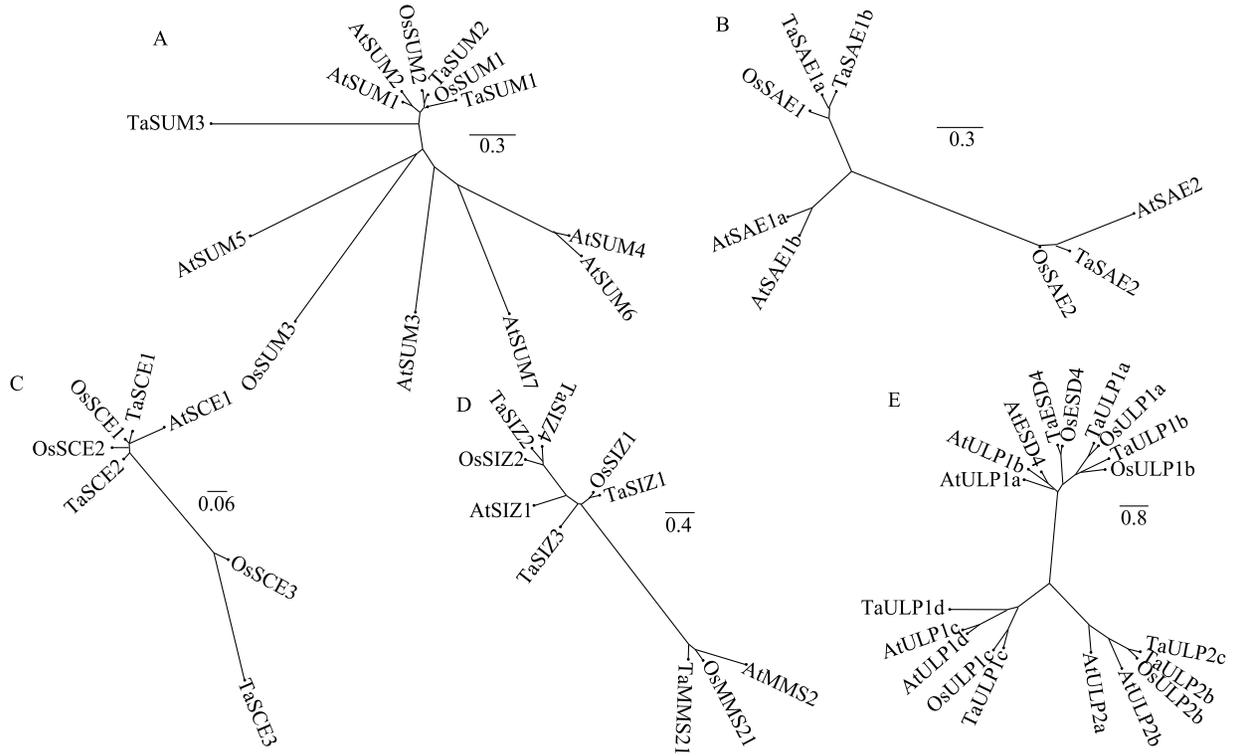
N.A., 基因组未注释;括号内基因为在小麦基因组发现的家族其他成员。

进一步构建了小麦、水稻和拟南芥中 SUMO 修饰系统各家族基因的进化树(图 1)。在小麦、水稻和拟南芥中, *SUM1* 和 *SUM2* 之间具有较近的亲缘关系,与其他 *SUM* 成员差异较大(图 1A)。*E1* 激

活酶基因家族中 *SAE1* 和 *SAE2* 成员明显分为 2 个分支,与拟南芥相比,小麦和水稻 *SAE1* 成员位于同一个分支中(图 1B)。与 SUMO 底物编码基因家族 *SUM* 相似,*E2* 结合酶基因家族中 *SCE1* 和 *SCE2* 具

有较近的亲缘关系,与 *SCE3* 差异较大(图 1C)。E3 连接酶基因家族中,*SIZ* 和 *MMS21* 分布在 2 个分支中,其中小麦中新发现的 *SIZ3* 和 *SIZ4* 分别与 *SIZ1* 和 *SIZ2* 具有较近的进化关系(图 1D)。蛋白酶家族

基因可以分为 3 个分支,其中 *UPL1a*、*UPL1b* 和 *ESD4* 位于一个分支,*UPL1c* 和 *UPL1d* 分布于同一个分支,而 *UPL2* 成员位于另外一个分支中(图 1E)。



A:SUMO 底物基因家族;B:E1 激活酶基因家族;C:E2 结合酶基因家族;D:E3 连接酶基因家族;E:蛋白酶基因家族。

图 1 小麦 SUMO 化修饰系统各基因家族进化树分析

Fig.1 Phylogenetic analysis of SUMOylation genes in wheat

2.2 小麦 SUMO 化修饰系统各基因家族成员在不同器官中的表达

利用 Choulet 等^[31]报道的小麦在不同时期和不同器官中的转录组数据,考查了 SUMO 化修饰系统各基因家族在不同时期营养器官(图 2)和繁殖器官(图 3)中的表达。

对 SUMO 化修饰系统各基因家族成员的表达进行分析,发现在 SUMO 修饰物编码基因中,*SUM1* 基因表达量最高,其次为 *SUM2*,而 *SUM3* 几乎不表达;在激活酶编码基因中,*SAE1a* 和 *SAE2* 表达量相对较高,而 *SAE1b* 表达量较低;在结合酶编码基因中,*SCE1* 具有相对高的的表达量,*SCE2* 表达量次之,*SCE3* 表达量最低;在连接酶编码基因中,*SIZ1* 和 *SIZ3* 具有较强的表达,*SIZ2* 和 *SIZ4* 的表达较弱。*MMS21* 仅在拔节时期的幼穗中表达

较强,在其余部位中表达均较弱;在蛋白酶编码基因中,*UPL2* (*UPL2b* ~ *UPL2c*) 的表达量明显高于 *UPL1* (*UPL1a* ~ *UPL1d*), *ESD4* 基因的表达介于二者之间。

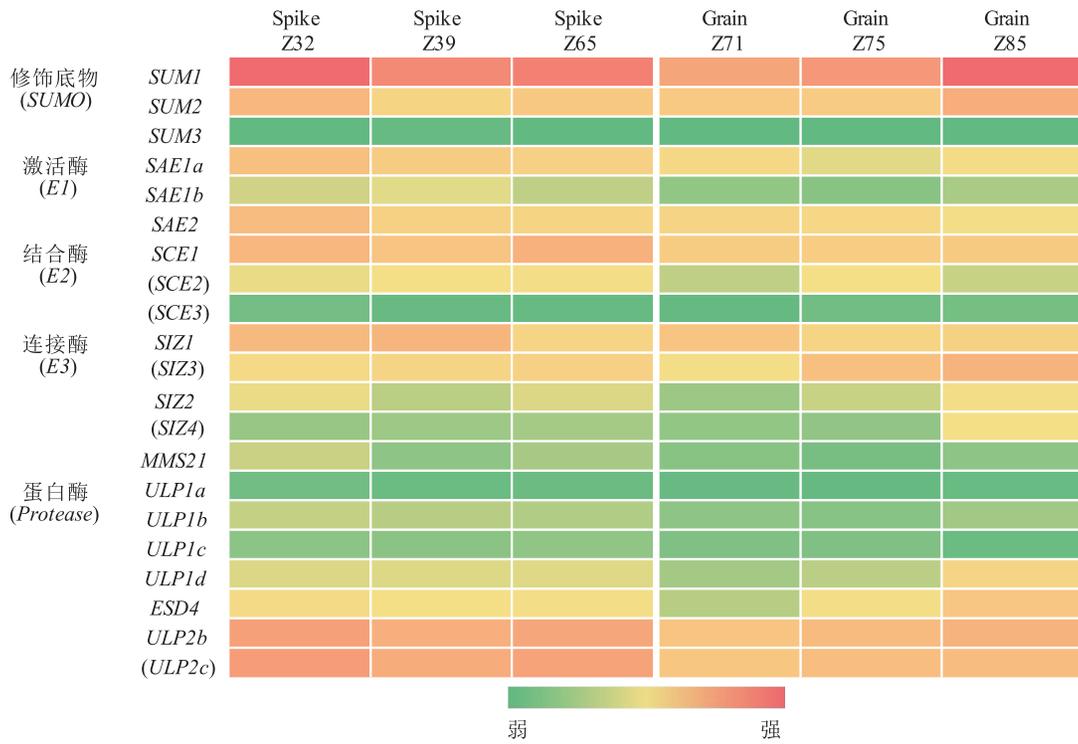
对各基因在营养器官和繁殖器官中的表达进行分析,发现 *SUM1* 基因在营养器官和繁殖器官中均具有较强的表达,其次为 *SUM2* 和 *UPL2* (*UPL2b* 和 *UPL2c*) 基因。*SIZ1* 和 *SIZ3* 基因在营养器官和繁殖器官中也具有较强的表达,并且二者在繁殖器官中的表达呈现强弱互补。*SAE1b* 和 *SCE1* 在营养器官中的表达高于在繁殖器官中的表达,而 *SIZ2* 和 *SIZ4* 在繁殖器官中的表达高于在营养器官中的表达,尤其体现在开花后 30 d 的种子中。*SUM3*、*SCE3*、*MMS21*、*UPL1a* 和 *UPL1c* 在各器官中的表达均较弱。



Root Z10、Root Z13、Root Z39、Leaf Z10、Leaf Z23、Leaf Z71、Stem Z30、Stem Z32、Stem Z65 见表1。

图2 小麦 SUMO 化修饰系统各基因家族在不同时期营养器官中的表达

Fig.2 Expression of wheat SUMOylation genes in different developmental stages of vegetative organs



Spike Z32、Spike Z39、Spike Z65、Grain Z71、Grain Z75、Grain Z85 见表1。

图3 小麦 SUMO 化修饰系统各基因家族在不同时期繁殖器官中的表达

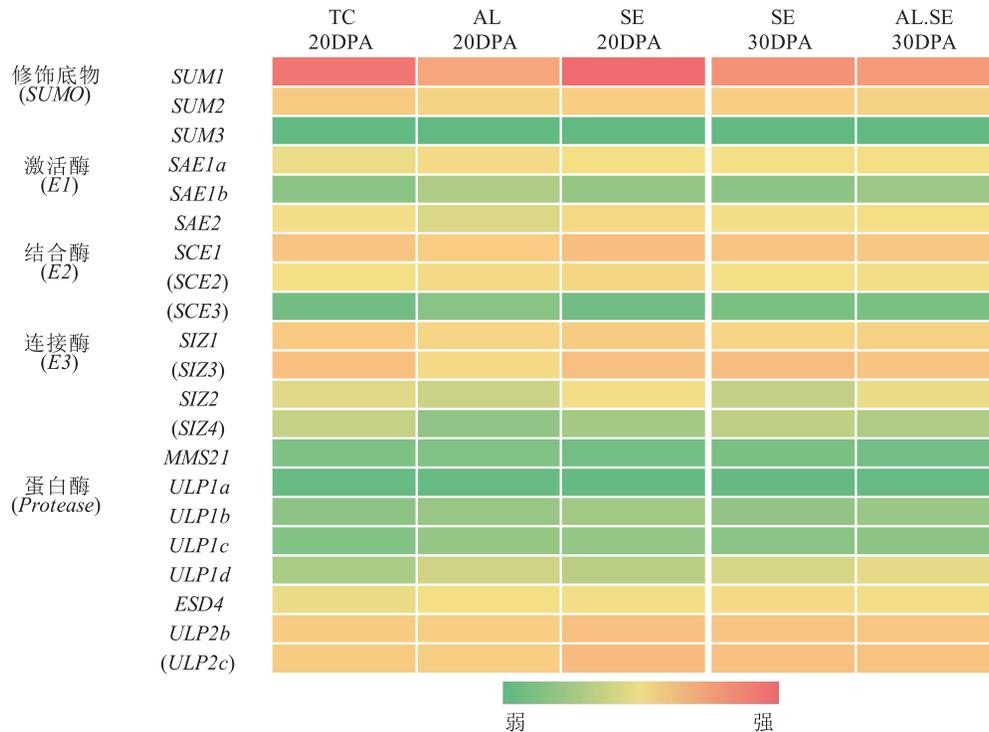
Fig.3 Expression of wheat SUMOylation genes in different developmental stages of reproductive organs

分析各基因在不同发育时期的表达,结果表明,一些基因在不同时期的表达具有明显的差异。*SUM1* 在各器官中的表达均随着发育时期的不同发生变化。*SUM2* 除了在不同时期的叶片中表达较为稳定外,在其余各器官中的表达随着发育时期而变化。*SCE1* 在种子以外的其他器官中的表达随发育时期发生了明显的变化。*SIZ1* 在茎秆以外的其他器官中的表达随发育时期发生了明显的变化。*SIZ3* 和 *UPL1d* 在根和穗以外的其他器官中的表达随发育时期的不同发生了明显的变化。*SAE1b* 在茎秆和穗部的表达随着发育时期的不同而发生变化。*SIZ2* 在繁殖器官中的表达随着发育时期的不同发生了明显变化。*SAE1a*、*SAE2* 和 *MMS21* 在穗中的表达随发育时期的不同发生了明显变化。*SCE2*、*SIZ4* 和 *ESD4* 在种子中的表达随发育时期的不同发生了明显的变化。

2.3 小麦 SUMO 化修饰系统各基因家族在种子中不同组织的表达

利用 Pfeifer 等^[32] 报道的小麦种子中不同时期

和不同组织(转移细胞、糊粉层和淀粉胚乳)的转录组数据,进一步对 SUMO 化修饰系统各基因家族的表达模式进行了分析。结果(图 4)表明,在 SUMO 化修饰系统各基因家族中,*SUM1* 基因的表达量最高,尤其体现在开花后 20 d 的转移细胞和淀粉胚乳中,伴随着发育,其表达量有所降低,但仍然高于其他基因的表达。*SUM2*、*SCE1*、*SIZ1*、*SIZ3*、*UPL2b* 和 *UPL2c* 也具有较强的表达,其中 *SUM2* 在不同时期各组织中的表达相对稳定,*SCE1*、*SIZ1* 和 *SIZ3* 在花后 20 d 的转移细胞和淀粉胚乳中表达较强,在糊粉层中的表达较弱,在花后 30 d 时各组织中的表达趋于稳定。*UPL2b* 和 *UPL2c* 在花后 20 d 的淀粉胚乳中具有较强的表达,在花后 30 d 时各组织中的表达趋于稳定。*SAE1a*、*SAE2*、*SCE2*、*SIZ2*、*SIZ4*、*UPL1d* 和 *ESD4* 在种子各部位也有表达,其中 *SAE1a*、*SCE2* 和 *ESD4* 的表达相对稳定,*SAE2*、*SIZ2*、*SIZ4* 和 *UPL1d* 在不同时期的表达具有差异。*SUM3*、*SAE1b*、*SCE3*、*MMS21*、*ULP1a*、*ULP1b* 和 *ULP1c* 等基因在不同时期种子各部位表达量均较低。



TC 20DPA、AL 20DPA、SE 20DPA、SE 30DPA、AL.SE 30DPA 见表 1。

图 4 小麦 SUMO 化修饰系统各基因家族在不同时期种子各部位的表达

Fig.4 Expression of wheat SUMOylation genes in different developmental stages and tissues of the grain

3 讨论

3.1 小麦 SUMO 化修饰系统的特点

SUMO 化修饰系统包括 SUMO 修饰底物、激活酶(*E1*)、结合酶(*E2*)、连接酶(*E3*)以及特异性识别 SUMO 修饰物的蛋白酶(*Protease*)^[1,8]。与拟南芥和水稻相似,小麦基因组含有以上各家族成员。小麦含有 3 个 SUMO 修饰底物编码基因 *SUM1*~*SUM3*,与拟南芥不同,并未在小麦中发现 *SUM4*~*SUM9*。在激活酶基因家族中,不同于水稻仅含有 1 个编码激活酶小亚基的基因 *SAE1a*,小麦还含有另外 1 个编码激活酶小亚基的基因 *SAE1b*。与拟南芥和水稻相同,小麦只含有 1 个编码激活酶大亚基的基因 *SAE2*。不同于拟南芥仅含有 1 个编码结合酶的基因 *SCE1*,小麦和水稻含有另外 2 个编码结合酶的基因 *SCE2* 和 *SCE3*。在连接酶基因家族中,拟南芥和水稻中目前报道存在 *SIZ1*、*SIZ2* 和 *MMS21* 3 个基因,而在小麦中发现了另外 2 个编码连接酶的基因 *SIZ3* 和 *SIZ4*,分别与 *SIZ1* 和 *SIZ2* 具有较高的同源性。在蛋白酶基因家族中,小麦中含有 7 个成员,分别为 *UPL1a*~*UPL1d*、*ESD4*、*UPL2b* 和 *UPL2c*,并未发现 *UPL2a*,但相比于拟南芥和水稻,小麦中存在另外一个蛋白酶基因 *UPL2c*。

由于小麦是异源六倍体,含有 A、B、D 3 个亚基因组,大部分基因存在对应于各亚基因组的部分同源基因(*Homoeologues*)^[35]。本研究发现,除了 *TRIAE_CS42_U_TGACv1_641662_AA2100790* 与部分同源基因 *TRIAE_CS42_5BL_TGACv1_405282_AA1323990* 和 *TRIAE_CS42_5DL_TGACv1_436222_AA1459270* 编码的蛋白质相似性分别为 85% 和 90%,而将其单独作为一个新的家族成员 *UPL2c* 外,其余所有家族成员均含有部分同源基因。其中 14 个基因家族成员在 A、B 和 D 亚基因组中均含有部分同源基因,另外 6 个成员在 2 个亚基因组中存在部分同源基因,可能是由于目前的小麦基因组拼接过程中存在的一些序列缺失区域造成。

进化树分析结果表明,与小麦和水稻中的同源基因相比,*E1* 激活酶基因家族中拟南芥 *SAE1a* 和 *SAE1b* 之间具有较近的亲缘关系,单独形成了一个分支。除此之外,SUMO 化修饰系统各家族基因在不同物种间均具有较近的进化关系,说明了 SUMO 化修饰系统各家族基因可能分别具有共同的祖先基

因。

3.2 小麦 SUMO 化修饰系统各基因家族的表达差异

SUMO 化修饰广泛参与了植物体各种生命活动^[7-8]。拟南芥中由单基因编码的激活酶大亚基 *SAE2* 和结合酶 *SCE1* 突变均会导致胚性死亡,*SUM1* 和 *SUM2* 双突变也会致死,充分说明了 SUMO 化修饰系统对于植物体生长发育具有重要作用^[4]。通过基因表达分析有助于了解各成员的时空表达模式并窥见其功能差异。我们借助转录组数据^[31-32] 考查了 SUMO 化修饰系统各家族成员在小麦不同时期、不同器官和组织中的表达,发现:① 小麦 SUMO 化修饰系统各基因家族成员中,*SUM1* 表达最强,尤其在繁殖器官和种子内部不同组织中更为明显,*SUM2* 亦有较强的表达,*SUM3* 在各个器官和组织中表达量最低,几乎不表达,这与拟南芥中的研究结果相似^[3],说明了 *SUM1* 和 *SUM2* 是小麦 SUMO 化修饰系统中修饰底物的主要提供者,并且 *SUM1* 在小麦种子发育过程中很可能起着重要作用。② *SCE1* 的表达仅次于 *SUM1*,显著高于 *SCE2*、*SCE3* 表达量最低。与之相似,激活酶编码基因 *SAE1a* 和 *SAE2* 表达高于 *SAE1b*,连接酶编码基因 *SIZ1* 和 *SIZ3* 的表达明显高于 *SIZ2*、*SIZ4* 和 *MMS21*,蛋白酶编码基因 *UPL2* (*UPL2b*、*UPL2c*) 表达明显高于 *ESD4* 和 *UPL1* (*UPL1a*、*UPL1d*),这些同一基因家族成员之间表达强度的差异说明了其在参与 SUMO 化修饰过程中所行使的功能可能具有差异。③ 很多基因(*SUM1*、*SUM2*、*SAE1a*、*SAE1b*、*SAE2*、*SCE2*、*SIZ1*、*SIZ2*、*SIZ3*、*SIZ4*、*MMS21*、*UPL1d* 和 *ESD4* 等)在一些器官中的表达随着发育时期的不同发生了明显的变化。一些基因如 *SAE1b* 和 *SCE1* 在营养器官中的表达相对较高,而 *SIZ2* 和 *SIZ4* 在繁殖器官中的表达相对较高。另一些基因如 *SIZ3* 与 *SIZ1* 具有较高的同源性,与在营养器官中的表达模式不同,二者在繁殖器官中的表达呈现强弱互补。排除试验误差造成的影响,这些结果反应了各基因表达及其所受调控的时间和空间差异。

SUMO 化修饰是由多基因参与的生物学过程,在 SUMO 前体的成熟、激活、结合、连接和去结合等每一过程都由相应的基因参与和行使功能^[1,8]。本研究从小麦中分离了 SUMO 化修饰系统各基因家族的成员,并借助小麦转录组数据分析各家族成员

在不同时期、不同器官和组织中的表达模式,将为小麦 SUMO 化修饰系统各基因家族的功能研究提供依据和参考。

参考文献:

- [1] MIURA K, JIN J B, HASEGAWA P M. Sumoylation, a post-translational regulatory process in plants [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2007, 10(5): 495-502.
- [2] HANANIA U, FURMAN-MATARASSO N, RON M, et al. Isolation of a novel SUMO protein from tomato that suppresses EIX-induced cell death [J]. *Plant J*, 1999, 19: 533-541.
- [3] KUREPA J, WALKER J M, SMALLE J, et al. The small ubiquitin-like modifier (SUMO) protein modification system in *Arabidopsis* accumulation of SUMO1 and -2 conjugates is increased by stress [J]. *J Biol Chem*, 1999, 278(9): 6862-6872.
- [4] SARACCO S A, MILLER M J, KUREPA J, et al. Genetic analysis of SUMOylation in *Arabidopsis*: conjugation of SUMO1 and SUMO2 to nuclear proteins is essential [J]. *Plant Physiol*, 2007, 145(1): 119-134.
- [5] HUANG L, YANG S, ZHANG S, et al. The *Arabidopsis* SUMO E3 ligase AtMMS21, a homologue of NSE2/MMS21, regulates cell proliferation in the root [J]. *Plant J*, 2009, 60(4): 666-678.
- [6] CASTANO-MIQUEL L, SEGUI J, LOIS L M. Distinctive properties of *Arabidopsis* SUMO paralogues support the in vivo predominant role of AtSUMO1/2 isoforms [J]. *Biochem J*, 2011, 436(3): 581-590.
- [7] MIURA K, HASEGAWA P M. Sumoylation and other ubiquitin-like post-translational modifications in plants [J]. *Trends Cell Biol*, 2010, 20(4): 223-232.
- [8] PARK H J, KIM W Y, PARK H C, et al. SUMO and SUMOylation in plants [J]. *Mol Cells*, 2011, 32(4): 305-316.
- [9] CASTRO P H, TAVARES R M, BEJARANO E R, et al. SUMO, a heavyweight player in plant abiotic stress responses [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2012, 69(19): 3269-3283.
- [10] JIN J B, JIN Y H, LEE J, et al. The SUMO E3 ligase, AtSIZ1, regulates flowering by controlling a salicylic acid-mediated floral promotion pathway and through affects on FLC chromatin structure [J]. *Plant J*, 2008, 53(3): 530-540.
- [11] MIURA K, LEE J, MIURA T, et al. SIZ1 controls cell growth and plant development in *Arabidopsis* through salicylic acid [J]. *Plant Cell Physiol*, 2010, 51(1): 103-113.
- [12] LIU Y, LAI J, YU M, et al. The *Arabidopsis* SUMO E3 ligase AtMMS21 dissociates the E2Fa/DPa complex in cell cycle regulation [J]. *Plant Cell*, 2016, 28(9): 2225-2237.
- [13] CATALA R, OUYANG J, ABREU I A, et al. The *Arabidopsis* E3 SUMO ligase SIZ1 regulates plant growth and drought responses [J]. *Plant Cell*, 2007, 19(9): 2952-2966.
- [14] MIURA K, JIN J B, LEE J, et al. SIZ1-mediated sumoylation of ICE1 controls CBF3/DREB1A expression and freezing tolerance in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2007, 19(4): 1403-1414.
- [15] VAN DEN BURG H A, KINI R K, SCHUURINK R C, et al. *Arabidopsis* small ubiquitin-like modifier paralogs have distinct functions in development and defense [J]. *Plant Cell*, 2010, 22(6): 1998-2016.
- [16] RAORANE M L, MUTTE S K, VARADARAJAN A R, et al. Protein SUMOylation and plant abiotic stress signaling: in silico case study of rice RLKs, heat-shock and Ca²⁺-binding proteins [J]. *Plant Cell Rep*, 2013, 32(7): 1053-1065.
- [17] LEE J, NAM J, PARK H C, et al. Salicylic acid-mediated innate immunity in *Arabidopsis* is regulated by SIZ1 SUMO E3 ligase [J]. *Plant J*, 2006, 49(1): 79-90.
- [18] MIURA K, LEE J, JIN J B, et al. Sumoylation of ABI5 by the *Arabidopsis* SUMO E3 ligase SIZ1 negatively regulates abscisic acid signaling [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(13): 5418-5423.
- [19] ZHENG Y, SCHUMAKER K S, GUO Y, et al. Sumoylation of transcription factor MYB30 by the small ubiquitin-like modifier E3 ligase SIZ1 mediates abscisic acid response in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(31): 12822-12827.
- [20] MIURA K, RUS A, SHARKHUU A, et al. The *Arabidopsis* SUMO E3 ligase SIZ1 controls phosphate deficiency responses [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(21): 7760-7765.
- [21] PARK B S, SONG J T, SEO H S, et al. *Arabidopsis* nitrate reductase activity is stimulated by the E3 SUMO ligase AtSIZ1 [J]. *Nat Commun*, 2011, 2: 400.
- [22] MIURA K, LEE J, GONG Q, et al. SIZ1 regulation of phosphate starvation-induced root architecture remodeling involves the control of auxin accumulation [J]. *Plant Physiol*, 2011, 155(2): 1000-1012.
- [23] MIURA K, HASEGAWA P M. Sumoylation and other ubiquitin-like post-translational modifications in plants [J]. *Trends Cell Biol*, 2010, 20(4): 223-232.
- [24] NOVATCHKOVA M, TOMANOV K, HOFMANN K, et al. Update on sumoylation: defining core components of the plant SUMO conjugation system by phylogenetic comparison [J]. *New Phytologist*, 2012, 195(1): 23-31.
- [25] WANG H, SUN R, CAO Y, et al. *OsSIZ1*, a SUMO E3 ligase gene, is involved in the regulation of the responses to phosphate and nitrogen in rice [J]. *Plant Cell Physiol*, 2015, 56(12): 2381-2395.
- [26] AUGUSTINE R C, YORK S L, RYTZ T C, et al. Defining the SUMO system in maize: SUMOylation is up-regulated during endosperm development and rapidly induced by stress [J]. *Plant Physiol*, 2016, 171(3): 2191-2210.
- [27] ZHANG R F, GUO Y, LI Y Y, et al. Functional identification of MdsIZ1 as a SUMO E3 ligase in apple [J]. *J Plant Physiol*, 2016, 198:69-80.
- [28] CAI B, KONG X, ZHONG C, et al. SUMO E3 Ligases GmSIZ1a

- and GmSIZ1b regulate vegetative growth in soybean [J]. *J Integr Plant Biol*, 2017, 59(1):2-14.
- [29] ZHOU L J, LI Y Y, ZHANG R F, et al. The SUMO E3 ligase MdsIZ1 promotes anthocyanin accumulation by sumoylating Md-MYB1 under low temperature conditions in apple [J]. *Plant Cell Environ*, 2017, 40(10):2068-2080.
- [30] WAN Y F, ROBERT K, ROWAN A M, et al. Spatiotemporal expression patterns of wheat amino acid transporters reveal their putative roles in nitrogen transport and responses to abiotic stress [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 5461.
- [31] CHOULET F, ALBERTI A, THEIL S, et al. Structural and functional partitioning of bread wheat chromosome 3B [J]. *Science*, 2014, 345(6194):1249721.
- [32] PFEIFER M, KUGLER K G, SANDVE S R, et al. Genome interplay in the grain transcriptome of hexaploid bread wheat [J]. *Science*, 2014, 345(6194):1250091.
- [33] KIM D, PERTEA G, TRAPNELL C, et al. TopHat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions [J]. *Genome Biology*, 2013, 14(4):R36.
- [34] TRAPNELL C, ROBERTS A, GOFF L, et al. Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with TopHat and Cufflinks [J]. *Nature Protocols*, 2012, 7(3):562-578.
- [35] INTERNATIONAL WHEAT GENOME SEQUENCING CONSORTIUM. A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*) genome [J]. *Science*, 2014, 345(6194):1251788.

(责任编辑:陈海霞)