

徐 鹏,李春宏,范昕琦,等. 高粱 *CIPK* 家族基因的全基因组鉴定及非生物胁迫下的表达特征[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(4): 591-598.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.04.002

## 高粱 *CIPK* 家族基因的全基因组鉴定及非生物胁迫下的表达特征

徐 鹏<sup>1</sup>, 李春宏<sup>1</sup>, 范昕琦<sup>2,3</sup>, 梁 笃<sup>2,3</sup>, 沈新莲<sup>1</sup>

(1.江苏省农业科学院经济作物研究所/农业农村部长江下游棉花与油菜重点实验室,江苏 南京 210014; 2.山西农业大学农学院,山西 晋中 030801; 3.山西省农业科学院高粱研究所/高粱遗传与种质创新山西省重点实验室,山西 晋中 030600)

**摘要:** 钙调磷酸酶 B 样蛋白互作蛋白激酶(*CIPK*)是一种重要的  $\text{Ca}^{2+}$  信号传感器,在植物应答逆境非生物胁迫过程中发挥着重要作用。为了探究高粱中 *CIPK* 家族基因的功能,本研究从高粱基因组中鉴定了 31 个 *SbCIPK* 基因,这些基因不均匀地分布在高粱的 9 条染色体上,编码蛋白质的氨基酸数量为 403~519 个,等电点为 6.07~9.38,相对分子质量为 46 357.31~58 316.97。基因结构分析结果表明,*SbCIPK* 家族基因分为内含子缺失型和内含子富集型 2 类。进化树分析结果表明,*SbCIPK* 家族蛋白质成员分为 8 个亚族。基于转录组数据的表达模式分析结果表明,*SbCIPK* 基因广泛参与对盐胁迫、干旱胁迫等非生物胁迫的响应。本研究结果可以为高粱 *CIPK* 家族基因的功能研究奠定基础。

**关键词:** 高粱; *CIPK* 基因; 全基因组鉴定; 非生物胁迫

**中图分类号:** S514 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024)04-0591-08

## Whole genome-wide identification of *CIPK* family and their expression characteristics under abiotic stress in *Sorghum bicolor*

XU Peng<sup>1</sup>, LI Chun-hong<sup>1</sup>, FAN Xin-qi<sup>2,3</sup>, LIANG Du<sup>2,3</sup>, SHEN Xin-lian<sup>1</sup>

(1. Institute of Industrial Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Cotton and Rapeseed, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing 210014, China; 2. College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Jinzhong 030801; 3. Shanxi Key Laboratory of Sorghum Genetic and Germplasm Innovation, Sorghum Research Institute of Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Jinzhong 030600)

**Abstract:** Calcineurin B-like proteins interacting protein kinase (*CIPK*) is an important  $\text{Ca}^{2+}$  signal sensor, which plays an important role in plants' response to abiotic stress. In order to explore the function of *CIPK* family gene members in *Sorghum bicolor*, a total of 31 *SbCIPK* genes were identified, which were unevenly distributed on nine chromosomes from *Sorghum bicolor* in this study. The length of the *SbCIPKs* encoded proteins ranged from 403 to 519 aa, the isoelectric points ranged from 6.07 to 9.38, and the relative molecular weights ranged from 46 357.31 to 58 316.97. The *SbCIPK* gene family members were divided into intron deletion type and intron enrichment type by gene structure analysis. According to the results of phylogenetic tree analysis, the *S. bicolor* *SbCIPK* family protein members were divided into eight subgroups. *SbCIPK* genes

were widely involved in abiotic stress responses to salt and drought and so on based on the published transcriptome data. These results can lay the foundation for the functional study of *SbCIPK* family members in *S. bicolor*.

**Key words:** *Sorghum bicolor*; *CIPK* gene; whole genome-wide identification; abiotic stress

收稿日期: 2023-02-21

基金项目: 亚夫科技服务项目[KF(21)3001]; 山西省基础研究计划项目(202103021223130); 山西种业创新良种联合攻关项目(2022N2GL-06); 山西省农业科学院杂粮分子育种平台专项(YGC2019FZ5); 山西省科技合作交流专项(202204041101032)

作者简介: 徐 鹏(1981-), 男, 江苏扬中人, 博士, 副研究员, 主要从事作物分子育种研究。(E-mail) xupengjaas@126.com

通讯作者: 沈新莲, (E-mail) xlshen68@126.com

植物在生长发育过程中经常遭受各种非生物胁迫

迫,如盐胁迫、干旱胁迫、低温胁迫。在漫长的进化过程中,为了适应生存条件,植物形成了完整的胁迫反应分子机制。植物通过调节信号转导和内源激素代谢来应对非生物胁迫。 $\text{Ca}^{2+}$ 作为第二信使,在多种非生物胁迫的响应中发挥着重要作用<sup>[1]</sup>。 $\text{Ca}^{2+}$ 信号传感器主要包括 3 种:钙结合蛋白钙调蛋白(CaM)和 CaM 样蛋白(CMLs)、钙依赖蛋白激酶(CDPK)、类钙调磷酸酶 B 蛋白(CBL)<sup>[2]</sup>。CBL 是植物特有的一种新型 EF 手型钙感受器蛋白,其本身并没有激酶活性,当它识别到钙信号后,可以与下游的钙调磷酸酶 B 样蛋白互作蛋白激酶(CIPK)相互作用,形成丝氨酸/苏氨酸磷酸酶复合体,通过调节植物细胞中离子浓度以缓解逆境胁迫。

CIPK 是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,通常具有 N 端激酶催化结构域和 C 端调节结构域。C 端调节结构域内有 21~24 个氨基酸组成的保守的 NAF 结构域。CIPK 通过 C 端的 NAF 与 CBL 相互作用,从而产生一个复杂的信号网络。NAF 结构域具有双重功能,包括自我抑制和与 CBL 特异性结合以激活 CIPK 活性<sup>[3]</sup>。目前,在水稻<sup>[4]</sup>、小麦<sup>[5]</sup>以及棉花<sup>[6]</sup>中分别发现了 33 个、20 个以及 79 个 CIPK 基因。已有研究者鉴定出部分 CBL-CIPK 系统成员在植物应答逆境胁迫中发挥的功能<sup>[7-9]</sup>。CIPK 的结构高度保守,同一物种 CIPK 成员之间存在部分功能冗余,不同物种间也存在功能高度相似的 CIPK,它们可能介导相同的应激反应。为了进一步揭示 CIPK 介导的复杂网络系统,利用基因工程技术改良作物在非生物胁迫下的抗性,我们还需要对 CIPK 基因的功能进行详细研究。

高粱(*Sorghum bicolor*)是世界第五大禾谷类作物,也是中国主要的杂粮作物之一,具有耐旱、耐涝、耐贫瘠、耐盐碱等多重抗性。随着高粱基因组序列的公布,高粱基因家族鉴定的研究工作广泛开展,但目前尚未见有关高粱 CIPK 基因家族全基因组鉴定的报道。本研究拟基于公布的高粱基因组序列,在基因组水平上鉴定高粱 CIPK 家族成员,并对其进行生物信息学分析以及表达特征分析,以期为进一步探究高粱 CIPK 家族基因功能奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 高粱 CIPK 基因家族成员的鉴定

从拟南芥 TAIR 数据库(<http://www.arabidopsis.org>)中获取 26 个 CIPK 蛋白的氨基酸序列,并利

用本地 BLASTP 同源比对高粱基因组数据库<sup>[10]</sup>,获得候选高粱 CIPK 基因家族成员。在 Pfam 网站(<http://pfam-legacy.xfam.org/>)下载获得保守结构域 NAF 的种子文件(PF03822),利用本地 HMMER 软件对候选高粱 CIPK 成员的 NAF 功能结构域进行筛选,获得同时具有 N 端激酶催化结构域和 C 端 NAF 调节结构域的 SbCIPK 家族成员。

### 1.2 高粱 CIPK 基因家族成员染色体分布及其编码蛋白质的理化性质分析

利用 ProtParam 软件(<http://web.expasy.org/protparam>)分析高粱 CIPK 家族成员的氨基酸数量、等电点以及相对分子质量等理化性质;根据高粱 CIPK 家族基因的基因组位置信息提取基因全长序列,利用 Mapinspect 软件绘制染色体分布图。

### 1.3 高粱 CIPK 基因家族系统进化与基因结构分析

利用 MEGA 6.0 软件构建高粱和拟南芥的 CIPK 蛋白系统进化树;利用 GSDS 软件(<http://gsds.cbi.pku.edu.cn>)分析 SbCIPK 家族基因结构;利用 MEME 软件(<http://meme-suite.org/tools/meme>)对 SbCIPK 蛋白进行保守基序(Motif)分析。

### 1.4 非生物胁迫下高粱 CIPK 家族基因的表达特征分析

分析高粱 SbCIPK 家族基因在非生物胁迫下的表达特征。在美国国立生物技术信息中心(NCBI)网站(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载高粱表达序列标签(EST)数据,提取盐胁迫、干旱胁迫、水分胁迫以及低温胁迫等非生物胁迫诱导表达的 EST 序列共 30 771 条。分析非生物胁迫下,在耐非生物胁迫材料与对非生物胁迫敏感材料之间差异表达的 SbCIPK 基因。在 NCBI 网站下载已发表的高粱非生物胁迫下的转录组数据,将 Clean data 与高粱参考基因组数据库<sup>[10]</sup>进行比对,以每千个碱基的转录每百万映射读取的片段(FPKM)量化基因的表达量,采用 DESeq 软件以伪发现率(FDR)≤0.001 且差异倍数在 2 倍以上作为标准筛选差异表达的 SbCIPK 基因。

## 2 结果与分析

### 2.1 高粱 CIPK 家族基因的鉴定、染色体定位及其编码蛋白质的理化性质

基于同源比对获得 31 个高粱 CIPK 基因家族成员,命名为 SbCIPK1~SbCIPK31。31 个 SbCIPK 基因不均匀地分布在高粱 9 条染色体上,其中染色体

3 上分布的最多,有 7 个 *SbCIPK* 基因;其次是染色体 2 和染色体 9,各有 6 个 *SbCIPK* 基因;染色体 1 和染色体 8 上均有 3 个 *SbCIPK* 基因;染色体 5 和染

色体 10 上均有 2 个 *SbCIPK* 基因;染色体 4 和染色体 7 上均只有 1 个 *SbCIPK* 基因;而染色体 6 上没有 *SbCIPK* 基因(图 1)。

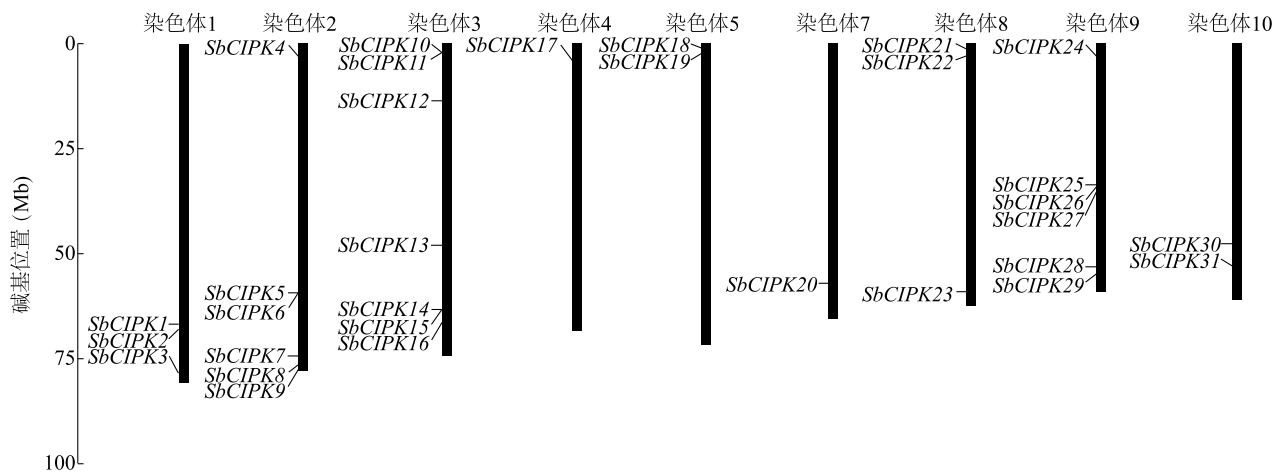


图 1 高粱 *CIPK* 基因在染色体上的分布

Fig.1 Chromosome distribution of *CIPK* genes in *Sorghum bicolor*

蛋白质理化性质分析结果(表 1)表明,*SbCIPK* 家族的氨基酸数量差异不大,氨基酸数量最多的为 519 个,最少的为 403 个;相对分子质量为 46 357.31~58 316.97,虽然 *SbCIPK15* 含有的氨基酸数量最多,但相对分子质量并非最大,相对分子质量最大的是 *SbCIPK16*,含有 516 个氨基酸。*SbCIPK21* 含有的氨基酸数量最少,相对分子质量也最小。*SbCIPK* 家族蛋白质理论等电点为 6.07~9.38,大部分为碱性蛋白质,仅 *SbCIPK12*、*SbCIPK13* 和 *SbCIPK24* 为酸性蛋白质。

## 2.2 高粱 *CIPK* 家族的进化树分析

对 31 个高粱 *CIPK* 家族成员和 26 个拟南芥 *CIPK* 家族成员构建进化树,分析高粱 *CIPK* 家族系统进化关系。图 2 显示,将高粱 *CIPK* 家族成员分为 8 个亚族,其中 A 亚族中 *SbCIPK* 成员最多,有 10 个 *SbCIPK* 成员 (*SbCIPK1*、*SbCIPK8*、*SbCIPK10*、*SbCIPK16*、*SbCIPK17*、*SbCIPK18*、*SbCIPK22*、*SbCIPK25*、*SbCIPK26*、*SbCIPK28*);B 亚族中有 4 个 *SbCIPK* 成员 (*SbCIPK11*、*SbCIPK15*、*SbCIPK29*、*SbCIPK30*);C 亚族中有 3 个 *SbCIPK* 成员 (*SbCIPK7*、*SbCIPK12*、*SbCIPK24*);D 亚族有 8 个 *SbCIPK* 成员 (*SbCIPK2*、*SbCIPK3*、*SbCIPK4*、*SbCIPK9*、*SbCIPK13*、*SbCIPK19*、*SbCIPK21*、*SbCIPK31*);E 亚族和 G 亚族中均仅有 1 个 *SbCIPK* 成员,分别为 *SbCIPK5* 和 *SbCIPK14*;F 亚

族和 H 亚族中各有 2 个 *SbCIPK* 成员,分别为 *SbCIPK6*、*SbCIPK20* 和 *SbCIPK23*、*SbCIPK27*。在系统进化上高粱和拟南芥 *CIPK* 具有较高的同源复制系数,推测它们的同源基因执行相似的功能。

## 2.3 高粱 *CIPK* 家族基因结构分析

图 3 显示,有 11 个 *SbCIPK* 基因包含内含子,分别为 *SbCIPK2*、*SbCIPK3*、*SbCIPK4*、*SbCIPK7*、*SbCIPK9*、*SbCIPK12*、*SbCIPK13*、*SbCIPK19*、*SbCIPK21*、*SbCIPK24*、*SbCIPK31*。另外 20 个 *SbCIPK* 基因没有内含子,其中 *SbCIPK23* 只有外显子。结合进化树分析结果,发现 11 个包含内含子的 *SbCIPK* 基因均聚类在 C 亚族和 D 亚族;A、E、F、G 亚族中所有基因都有上下游非编码区;B 亚族中 *SbCIPK11* 和 *SbCIPK15* 没有下游非编码区,其余基因均含有上下游非编码区;H 亚族中的 2 个基因 *SbCIPK23* 和 *SbCIPK27* 均没有上游非编码区。因此,推测 C 亚族、D 亚族与其他亚族相比在功能上存在较大差异。

## 2.4 高粱 *CIPK* 家族蛋白质保守基序分析

利用 MEME 软件分析高粱 *CIPK* 家族中 10 个保守基序,31 个 *SbCIPK* 家族成员的基序分析结果(图 4)表明,每个亚族的成员具有相同或类似的基序类型和排列顺序。A 亚族中 10 个 *SbCIPK* 家族成员具有全部 10 个保守基序且排列顺序完全一致;B 亚族中的 4 个 *SbCIPK* 成员均缺少基序 9,除了 *Sb-*

CIPK11 外,其他 3 个成员还缺少基序 8;C 亚族中的 3 个 SbCIPK 成员均缺少基序 9;D 亚族中 SbCIPK2、SbCIPK3、SbCIPK9 和 SbCIPK19 具有全部 10 个保守基序, SbCIPK13 和 SbCIPK31 缺少基序 9, SbCIPK4 缺少基序 2, SbCIPK21 缺少基序 2 和基序 4;

E 亚族中的 SbCIPK5 缺少基序 8; F 亚族中 SbCIPK20 包含全部的基序,而 SbCIPK6 缺少基序 6;G 亚族中的 SbCIPK14 缺少基序 8; H 亚族中 SbCIPK23 缺少基序 6 和基序 7,而 SbCIPK27 仅含有 5 个基序,缺少的基序较多。

表 1 高粱 CIPK 家族基因编码蛋白质的理化性质

Table 1 Physicochemical properties of proteins encoded by CIPK family genes in Sorghum bicolor

基因名称	基因组数据库登记号	基因全长 (bp)	SbCIPK 家族基因编码的蛋白质信息				
			蛋白质名称	氨基酸数量 (个)	相对分子质量	等电点	分子式
SbCIPK1	Sobic.001G379600	2 937	SbCIPK1	438	50 016.44	9.35	C <sub>2 247</sub> H <sub>3 606</sub> N <sub>610</sub> O <sub>632</sub> S <sub>23</sub>
SbCIPK2	Sobic.001G390200	5 572	SbCIPK2	449	50 860.31	8.26	C <sub>2 279</sub> H <sub>3 618</sub> N <sub>618</sub> O <sub>673</sub> S <sub>13</sub>
SbCIPK3	Sobic.001G523200	6 993	SbCIPK3	447	50 280.61	7.64	C <sub>2 233</sub> H <sub>3 525</sub> N <sub>617</sub> O <sub>660</sub> S <sub>22</sub>
SbCIPK4	Sobic.002G034700	3 488	SbCIPK4	431	48 803.25	9.38	C <sub>2 179</sub> H <sub>3 489</sub> N <sub>605</sub> O <sub>635</sub> S <sub>15</sub>
SbCIPK5	Sobic.002G203000	2 007	SbCIPK5	479	52 107.42	8.52	C <sub>2 297</sub> H <sub>3 660</sub> N <sub>668</sub> O <sub>683</sub> S <sub>17</sub>
SbCIPK6	Sobic.002G203100	2 413	SbCIPK6	438	47 423.38	8.65	C <sub>2 089</sub> H <sub>3 359</sub> N <sub>617</sub> O <sub>612</sub> S <sub>16</sub>
SbCIPK7	Sobic.002G390100	5 376	SbCIPK7	444	50 265.89	8.79	C <sub>2 240</sub> H <sub>3 588</sub> N <sub>618</sub> O <sub>659</sub> S <sub>17</sub>
SbCIPK8	Sobic.002G417300	5 197	SbCIPK8	449	51 074.14	9.21	C <sub>2 271</sub> H <sub>3 657</sub> N <sub>627</sub> O <sub>664</sub> S <sub>22</sub>
SbCIPK9	Sobic.002G424500	4 831	SbCIPK9	448	50 798.12	7.13	C <sub>2 259</sub> H <sub>3 580</sub> N <sub>622</sub> O <sub>673</sub> S <sub>18</sub>
SbCIPK10	Sobic.003G024400	1 936	SbCIPK10	455	50 830.45	9.26	C <sub>2 264</sub> H <sub>3 600</sub> N <sub>630</sub> O <sub>661</sub> S <sub>19</sub>
SbCIPK11	Sobic.003G024600	1 969	SbCIPK11	514	56 890.61	7.65	C <sub>2 505</sub> H <sub>3 966</sub> N <sub>736</sub> O <sub>745</sub> S <sub>18</sub>
SbCIPK12	Sobic.003G139500	4 823	SbCIPK12	463	51 915.56	6.55	C <sub>2 310</sub> H <sub>3 680</sub> N <sub>636</sub> O <sub>686</sub> S <sub>18</sub>
SbCIPK13	Sobic.003G181800	13 741	SbCIPK13	454	51 125.26	6.07	C <sub>2 283</sub> H <sub>3 593</sub> N <sub>625</sub> O <sub>680</sub> S <sub>14</sub>
SbCIPK14	Sobic.003G302600	1 825	SbCIPK14	487	54 548.26	8.81	C <sub>2 388</sub> H <sub>3 822</sub> N <sub>700</sub> O <sub>717</sub> S <sub>23</sub>
SbCIPK15	Sobic.003G302800	4 894	SbCIPK15	519	56 989.73	8.93	C <sub>2 549</sub> H <sub>4 044</sub> N <sub>710</sub> O <sub>730</sub> S <sub>21</sub>
SbCIPK16	Sobic.003G339700	3 480	SbCIPK16	516	58 316.97	7.59	C <sub>2 605</sub> H <sub>4 166</sub> N <sub>708</sub> O <sub>775</sub> S <sub>16</sub>
SbCIPK17	Sobic.004G049500	3 512	SbCIPK17	461	52 737.53	9.19	C <sub>2 349</sub> H <sub>3 759</sub> N <sub>659</sub> O <sub>691</sub> S <sub>14</sub>
SbCIPK18	Sobic.005G012000	2 848	SbCIPK18	443	50 375.25	9.33	C <sub>2 252</sub> H <sub>3 611</sub> N <sub>623</sub> O <sub>651</sub> S <sub>17</sub>
SbCIPK19	Sobic.005G024200	5 537	SbCIPK19	440	50 389.96	7.65	C <sub>2 262</sub> H <sub>3 584</sub> N <sub>606</sub> O <sub>663</sub> S <sub>16</sub>
SbCIPK20	Sobic.007G140900	5 129	SbCIPK20	457	49 545.02	9.13	C <sub>2 188</sub> H <sub>3 532</sub> N <sub>646</sub> O <sub>634</sub> S <sub>16</sub>
SbCIPK21	Sobic.008G016200	3 407	SbCIPK21	403	46 357.31	8.55	C <sub>2 085</sub> H <sub>3 300</sub> N <sub>560</sub> O <sub>608</sub> S <sub>13</sub>
SbCIPK22	Sobic.008G032000	3 251	SbCIPK22	445	50 721.66	9.28	C <sub>2 263</sub> H <sub>3 649</sub> N <sub>631</sub> O <sub>657</sub> S <sub>16</sub>
SbCIPK23	Sobic.008G158100	1 307	SbCIPK23	435	47 566.83	8.80	C <sub>2 096</sub> H <sub>3 384</sub> N <sub>616</sub> O <sub>609</sub> S <sub>19</sub>
SbCIPK24	Sobic.009G034200	5 644	SbCIPK24	461	51 772.04	6.33	C <sub>2 296</sub> H <sub>3 647</sub> N <sub>647</sub> O <sub>686</sub> S <sub>15</sub>
SbCIPK25	Sobic.009G096433	17 692	SbCIPK25	431	49 046.91	9.21	C <sub>2 199</sub> H <sub>3 522</sub> N <sub>596</sub> O <sub>633</sub> S <sub>19</sub>
SbCIPK26	Sobic.009G096700	1 746	SbCIPK26	431	49 032.97	9.30	C <sub>2 200</sub> H <sub>3 528</sub> N <sub>596</sub> O <sub>631</sub> S <sub>19</sub>
SbCIPK27	Sobic.009G097300	4 141	SbCIPK27	440	48 442.53	7.17	C <sub>2 144</sub> H <sub>3 429</sub> N <sub>617</sub> O <sub>630</sub> S <sub>16</sub>
SbCIPK28	Sobic.009G173100	2 727	SbCIPK28	456	51 700.78	9.29	C <sub>2 322</sub> H <sub>3 715</sub> N <sub>625</sub> O <sub>675</sub> S <sub>16</sub>
SbCIPK29	Sobic.009G195800	7 102	SbCIPK29	506	56 826.83	7.70	C <sub>2 532</sub> H <sub>3 982</sub> N <sub>722</sub> O <sub>736</sub> S <sub>16</sub>
SbCIPK30	Sobic.010G161000	1 860	SbCIPK30	477	52 958.25	8.55	C <sub>2 346</sub> H <sub>3 751</sub> N <sub>663</sub> O <sub>678</sub> S <sub>27</sub>
SbCIPK31	Sobic.010G186300	6 986	SbCIPK31	449	50 415.05	8.79	C <sub>2 253</sub> H <sub>3 587</sub> N <sub>621</sub> O <sub>656</sub> S <sub>17</sub>

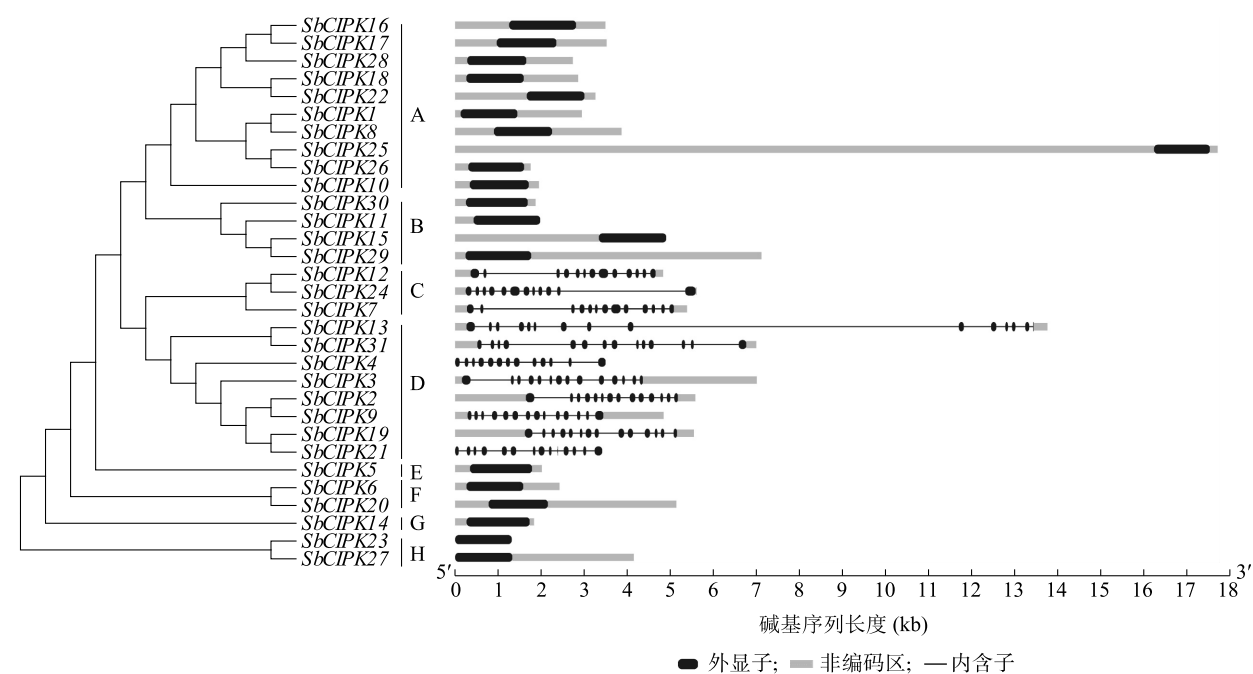




**Fig.2** Phylogenetic tree of CIPK family members in *Sorghum bicolor*

干旱胁迫、盐胁迫以及水分胁迫诱导表达; *Sb-CIPK21* 同时受盐胁迫和水分胁迫诱导表达。

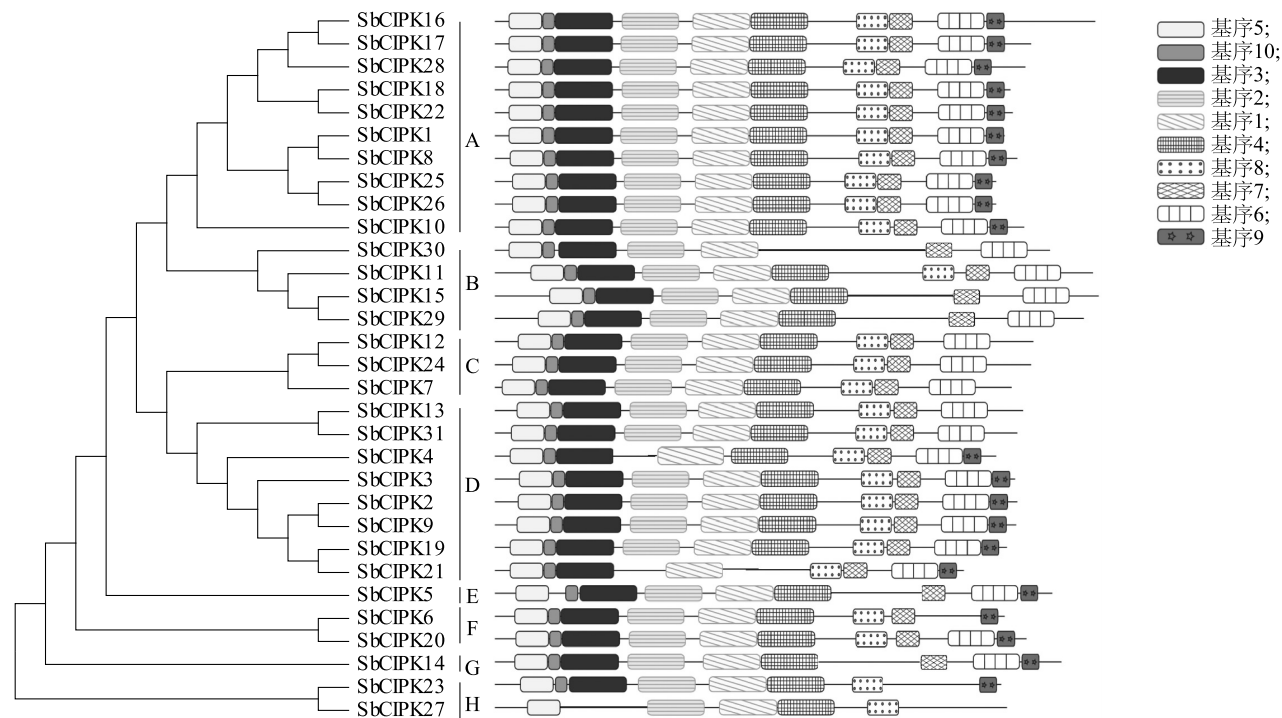
我们同样分析了在耐非生物胁迫材料与对非生物胁迫敏感材料之间差异表达的 *SbCIPK* 基因。在水分胁迫诱导下,在耐水分胁迫材料与对水分胁迫敏感材料之间差异表达的 *SbCIPK* 基因有 2 个,分别为 *SbCIPK7* 和 *SbCIPK12*;在盐胁迫诱导下,在耐盐胁迫材料与对盐胁迫敏感材料之间差异表达的 *SbCIPK* 基因有 4 个,分别为 *SbCIPK4*、*SbCIPK6*、*SbCIPK18* 和 *SbCIPK22*;在干旱胁迫下,在耐干旱胁迫材料与对干旱胁迫敏感材料之间差异表达的 *SbCIPK* 基因有 4 个,分别为 *SbCIPK4*、*SbCIPK5*、*SbCIPK22* 和 *SbCIPK29*;在低温胁迫下,在耐低温胁迫材料与对低温胁迫敏感材料之间差异表达的 *SbCIPK* 基因有 1 个,为 *SbCIPK10*;在低氮胁迫下,在



A~H 表示 *SbCIPK* 基因亚族。

图 3 高粱 *CIPK* 基因结构分析

Fig.3 Structure analysis of *CIPK* gene family members in *Sorghum bicolor*



A~H 表示高粱 *CIPK* 成员亚族。

图 4 高粱 *CIPK* 家族保守基序分析

Fig.4 Motif analysis of *CIPK* family members in *Sorghum bicolor*

耐低氮胁迫材料与对低氮胁迫敏感材料之间差异表达的 *SbCIPK* 基因有 1 个,为 *SbCIPK30*。总共有 10

个 *SbCIPK* 基因在至少一种非生物胁迫下表现为在耐非生物胁迫材料与对非生物胁迫敏感材料之间差

异表达。在盐胁迫和干旱胁迫下, *SbCIPK4* 和 *SbCIPK22* 在耐盐/耐干旱胁迫材料与对盐/干旱胁迫敏感材料之间差异表达。

表 2 高粱 *CIPK* 家族基因在非生物胁迫下的表达特征

Table 2 Expression characteristics of *CIPK* family members under abiotic stress in *Sorghum bicolor*

基因	水分胁迫	盐胁迫	干旱胁迫	低温胁迫	低氮胁迫
<i>SbCIPK2</i>		a			
<i>SbCIPK4</i>		b	a,b		
<i>SbCIPK5</i>			b		
<i>SbCIPK6</i>	a	b			
<i>SbCIPK7</i>	b	a			
<i>SbCIPK9</i>		a			
<i>SbCIPK10</i>				b	
<i>SbCIPK12</i>	b				
<i>SbCIPK18</i>	a	a,b	a		
<i>SbCIPK19</i>	a				
<i>SbCIPK20</i>	a				
<i>SbCIPK21</i>	a	a			
<i>SbCIPK22</i>	a	a,b	a,b		
<i>SbCIPK23</i>					a
<i>SbCIPK24</i>	a				
<i>SbCIPK29</i>			b		
<i>SbCIPK30</i>					b

a 表示受非生物胁迫诱导表达; b 表示非生物胁迫下 *SbCIPK* 基因在耐非生物胁迫材料与对非生物胁迫敏感材料之间差异表达。

### 3 讨论

*CIPK* 蛋白在植物界广泛存在,对于植物通过介导  $\text{Ca}^{2+}$  信号响应各种生理和发育过程至关重要<sup>[11]</sup>。*CIPK* 蛋白最早是在模式植物拟南芥中被发现的,在植物应对逆境胁迫中发挥着重要的作用。在本研究中,我们从高粱基因组中鉴定出 31 个 *SbCIPK* 基因家族成员。不同物种中 *CIPK* 数量的差异较大,如拟南芥中有 26 个 *CIPK*,水稻中有 33 个 *CIPK*<sup>[4]</sup>,小麦中有 20 个 *CIPK*<sup>[5]</sup>,棉花中有 79 个 *CIPK*<sup>[6]</sup>,菠萝中有 21 个 *CIPK*<sup>[12]</sup>,萝卜中有 51 个 *CIPK*<sup>[13]</sup>,茄子中有 15 个 *CIPK*<sup>[14]</sup>,苜蓿中有 135 个 *CIPK*<sup>[15]</sup>。基因可以通过多种机制复制,包括多倍化等全基因组复制。大量连续的全基因组复制产生了重复的基因,随后大量重复的基因在非功能化过程中趋于丢失。推测在进化过程中 *CIPK* 家族基因的复制和丢失是

导致植物 *CIPK* 基因数量不等的主要原因<sup>[16]</sup>。

作为钙传感器 CBL 的靶向激酶, *CIPK* 在 N 端含有激酶催化结构域,在 C 端含有 NAF 基序。*CIPK* 的磷酸化是调节这些靶向互作的重要模式<sup>[17]</sup>。在本研究中,所有 *SbCIPK* 都具有相似的 N 端和 C 端的调控结构域,磷酸化仍然是大多数 *CIPK* 发挥作用的主要途径<sup>[18]</sup>。NAF 是 *CIPK* C 端自身抑制结构域中的一个保守区,是 *CIPK* 家族的保守特征之一,是 CBL 的结合位点<sup>[19]</sup>。高粱 *CIPK* 基因结构与其他植物中的一些 *CIPK* 基因相似。31 个 *SbCIPK* 的外显子数量从 1 个或 2 个到多个不等,不同的外显子/内含子数量造成了不同的基因长度。这些研究结果表明,具有不同长度外显子的 *SbCIPK* 可能发挥多种作用。此外,除了 C 亚族和 D 亚族外, A、B、E、F、G、H 亚族中的 *SbCIPK* 基因是无内含子的分支。因此,推测 *SbCIPK* 的聚类可能是由高粱内含子保留和选择性剪接机制的进化造成的。

*CIPK* 广泛存在于植物中,在植物应答非生物胁迫的响应中起着重要作用。 $\text{Ca}^{2+}$  信号由非生物应激触发,并与 1 种或多种新型 CBL 激酶有特定的相互作用。CBL/*CIPK* 复合物可能参与多种 CBL-*CIPK* 信号通路,在植物生长和非生物胁迫耐受调控中发挥重要作用。近年来,关于拟南芥、水稻以及小麦等多种植物的研究结果表明, *CIPK* 基因在调节植物的非生物胁迫耐受性方面至关重要。在拟南芥中, *AtCBL4* 和 *AtCIPK24* 在质膜上结合,并激活质膜  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  反转运体 *AtNHX7*,从而维持耐盐离子的稳态<sup>[7]</sup>。*AtCBL10-AtCIPK24* 主要通过靶向液泡定位的  $\text{K}^+(\text{Na})^+/\text{H}^+$  反转运蛋白 *AtNHX1* 从细胞质中排除过量  $\text{Na}^+$  进入液泡,以维持细胞质中  $\text{Na}^+$  的稳定<sup>[8]</sup>。拟南芥 *CBL1/9-CIPK23* 复合物通过磷酸化硝酸盐转运蛋白 1/肽转运蛋白家族 6.3 调控硝酸根离子的摄取<sup>[20]</sup>。水稻中, *CBL1-CIPK23* 的互作激活了  $\text{K}^+$  转运蛋白 *AKT1*,增强低  $\text{K}^+$  胁迫下水稻植株对  $\text{K}^+$  的吸收<sup>[9]</sup>。*OsCIPK23* 的过表达诱导了水稻抗旱相关基因的表达<sup>[21]</sup>。过表达 *TaCIPK23* 的小麦在干旱条件下存活率更高,发芽率提高,根系发育更旺盛,渗透物质积累增加,失水率降低<sup>[22]</sup>。过表达 *TaCIPK25* 的小麦表现为对  $\text{Na}^+$  超敏感和  $\text{Na}^+$  的过量积累,根系细胞的  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  跨膜交换受到影响,表明 *TaCIPK25* 对小麦的盐胁迫具有负向调控作用<sup>[23]</sup>。在本研究中,我们分析了高粱 *CIPK* 家族基因在多种非生物胁迫下的表达

特征,其中多个 *SbCIPK* 基因受非生物胁迫诱导表达。基因表达模式的分析结果可以为基因功能的确定提供重要线索,本研究结果为进一步探究高粱 *SbCIPK* 家族基因功能奠定了基础。

## 参考文献:

- [1] KOLUKISAOGLU U, WEINL S, BLAZEVIĆ D, et al. Calcium sensors and their interacting protein kinases: genomics of the *Arabidopsis* and rice CBL-CIPK signaling networks[J]. *Plant Physiology*, 2004, 134: 43-58.
- [2] KUDLA J, BATISTIC O, HASHIMOTO K. Calcium signals: the lead currency of plant information processing[J]. *Plant Cell*, 2010, 22(3): 541-563.
- [3] ALVRECHT V, RITZ O, LINDER S, et al. The NAF domain defines a novel protein-protein interaction module conserved in  $\text{Ca}^{2+}$ -regulated kinases[J]. *EMBO Journal*, 2001, 20: 1051-1063.
- [4] CHEN X F, GU Z M, LIU F, et al. Molecular analysis of rice CIPKs involved in both biotic and abiotic stress responses[J]. *Rice Science*, 2011, 18: 1-9.
- [5] SUN T, WANG Y, WANG M, et al. Identification and comprehensive analyses of the *CBL* and *CIPK* gene families in wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. *BMC Plant Biology*, 2015, 15: 269.
- [6] SUN W N, ZHANG B, DENG J W, et al. Genome-wide analysis of *CBL* and *CIPK* family genes in cotton: conserved structures with divergent interactions and expression[J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2021, 27(2): 359-368.
- [7] QIU Q S, GUO Y, DIETRICH M A, et al. Regulation of SOS1, a plasma membrane  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger in *Arabidopsis thaliana*, by SOS2 and SOS3[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002, 99(12): 8436-8441.
- [8] KIM B G, WAADT R, CHEONG Y H, et al. The calcium sensor CBL10 mediates salt tolerance by regulating ion homeostasis in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Journal*, 2007, 52(3): 473-484.
- [9] LI J, LONG Y, QI G N, et al. The *OsaKTI* channel is critical for  $\text{K}^+$  uptake in rice roots and is modulated by the rice CBL1-CIPK23 complex[J]. *Plant Cell*, 2014, 26(8): 3387-3402.
- [10] MCCORMICK R F, TRUONG S K, SREEDASYAM A, et al. The *Sorghum bicolor* reference genome: improved assembly, gene annotations, a transcriptome atlas, and signatures of genome organization[J]. *The Plant Journal*, 2017, 93(2): 338-354.
- [11] SANYAL S K, RAO S, MISHRA L K, et al. Plant stress responses mediated by CBL-CIPK phosphorylation network[J]. *Enzymes*, 2016, 40: 31-64.
- [12] ASLAM M, FAKHER B, JAKADA B H, et al. Genome-wide identification and expression profiling of *CBL-CIPK* gene family in pineapple (*Ananas comosus*) and the role of *AcCBL1* in abiotic and biotic stress response[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(7): 293.
- [13] YIN X, WANG Q, CHEN Q, et al. Genome-wide identification and functional analysis of the calcineurin B-like protein and calcineurin B-like protein-interacting protein kinase gene families in turnip (*Brassica rapa* var. *rapa*)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1191.
- [14] LI J, JIANG M M, REN L, et al. Identification and characterization of *CBL* and *CIPK* gene families in eggplant (*Solanum melongena* L.)[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2016, 291(4): 1769-1781.
- [15] ZHANG X X, REN X L, QI X T, et al. Evolution of the *CBL* and *CIPK* gene families in *Medicago*: genome-wide characterization, pervasive duplication, and expression pattern under salt and drought stress[J]. *BMC Plant Biology*, 2022, 22(1): 512.
- [16] ZHANG X X, LI X X, ZHAO R, et al. Evolutionary strategies drive a balance of the interacting gene products for the *CBL* and *CIPK* gene families[J]. *New Phytologist*, 2020, 226(5): 1506-1516.
- [17] DENG J, YANG X, SUN W, et al. The calcium sensor CBL2 and its interacting kinase *CIPK6* are involved in plant sugar homeostasis via interacting with tonoplast sugar transporter TST2[J]. *Plant Physiology*, 2020, 183(1): 236-249.
- [18] SANYAL S K, PANDEY A, PANDEY G K. The CBL-CIPK signaling module in plants: a mechanistic perspective[J]. *Physiologia Plantarum*, 2015, 155(2): 89-108.
- [19] GUO Y, HALFTER U, ISHITANI M, et al. Molecular characterization of functional domains in the protein kinase SOS2 that is required for plant salt tolerance[J]. *Plant Cell*, 2001, 13: 1383-1400.
- [20] LERAN S, EDEL H, PERVENT M, et al. Nitrate sensing and uptake in *Arabidopsis* are enhanced by ABI2, a phosphatase inactivated by the stress hormone abscisic acid[J]. *Science Signaling*, 2015, 8(375). DOI:10.1126/scisignal.aaa4829.
- [21] YANG W, KONG Z, OMO-IKERODAH E, et al. Calcineurin B-like interacting protein kinase *OsCIPK23* functions in pollination and drought stress responses in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2008, 35(9): 531-543.
- [22] CUI X Y, DU Y T, FU J D, et al. Wheat CBL-interacting protein kinase 23 positively regulates drought stress and ABA responses[J]. *BMC Plant Biology*, 2018, 18: 93.
- [23] JIN X, SUN T, WANG X T, et al. Wheat CBL-interacting protein kinase 25 negatively regulates salt tolerance in transgenic wheat[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 28884.

(责任编辑:王 妮)