

徐 灵,洪鼎立,邓云颢,等. 小麦 *TaSRG1* 基因的克隆、生物信息学分析及表达特征[J]. 江苏农业学报,2024,40(12):2193-2200.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2024.12.001

小麦 *TaSRG1* 基因的克隆、生物信息学分析及表达特征

徐 灵, 洪鼎立, 邓云颢, 徐如宏, 李鲁华
(贵州大学农学院/国家小麦改良中心贵州分中心, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 为明确小麦锌指蛋白 *TaSRG1* 的生物学功能,本研究以中国春小麦为材料,克隆获得 *TaSRG1* 基因,并利用在线软件对其编码的蛋白质进行生物信息学分析,通过 RT-PCR 和 qRT-PCR 技术分析 *TaSRG1* 基因在小麦组织中的表达情况及其对激素以及盐和干旱等逆境胁迫的响应特征。结果表明:小麦 *TaSRG1* 基因编码序列(CDS)全长1 047 bp,基因编码的蛋白质为非分泌亲水性稳定蛋白,定位于细胞质,含 23 个磷酸化位点。多重序列比对和系统进化树分析结果表明小麦 *TaSRG1* 基因的生物学功能与二粒小麦最为相近;*TaSRG1* 启动子区域含 18 种顺式作用元件,其中 5 种与植物激素有关。*TaSRG1* 基因在小麦根、茎、叶中均有表达,茎中的表达量最高;激素(ABA、MeJA)、盐(NaCl)和干旱胁迫处理后3~72 h,小麦叶片中 *TaSRG1* 基因的相对表达量总体均呈先增加后降低的趋势。本研究结果为小麦 *SRG1* 基因的育种应用提供依据。

关键词: 小麦; *TaSRG1*; 基因克隆; 生物信息学分析; 表达分析

中图分类号: Q786 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2024)12-2193-08

Cloning, bioinformatics analysis and expression profiles of *TaSRG1* gene in wheat

XU Ling, HONG Dingli, DENG Yunhao, XU Ruhong, LI Luhua
(College of Agriculture, Guizhou University/Guizhou Branch of National Wheat Improvement Center, Guiyang 550025, China)

Abstract: In order to clarify the biological function of wheat zinc finger protein *TaSRG1*, *TaSRG1* gene was cloned from Chinese spring wheat, and the bioinformatics analysis of its encoded protein was carried out by online software. The expression of *TaSRG1* gene in wheat tissues and its response to stresses such as hormones, salt and drought were analyzed by RT-PCR and qRT-PCR. The results showed that the coding sequence (CDS) of *TaSRG1* gene in wheat was 1 047 bp in length, and the protein encoded by the gene was a non-secreted hydrophilic stable protein, located in the cytoplasm, containing 23 phosphorylation sites. Multiple sequence alignment and phylogenetic tree analysis indicated that the biological function of wheat *TaSRG1* gene was most similar to that of emmer wheat. The *TaSRG1* promoter region contained 18 *cis*-acting elements, of which five were related to plant hormones. *TaSRG1* gene was expressed in roots, stems and leaves of wheat, and the expression level in stems was the highest. The relative expression of *TaSRG1* gene in wheat leaves increased first and then decreased at 3–72 h after hormone (ABA, MeJA), salt (NaCl) and drought stress treatments. The results of this study provide a basis for the breeding application of wheat *SRG1* gene.

Key words: wheat; *TaSRG1*; gene cloning; bioinformatics analysis; expression analysis

收稿日期:2024-04-17

基金项目:国家自然科学基金项目(32160456、32360474);贵州省科技计划项目[黔科合基础(2020)1Z018 号]

作者简介:徐 灵(1999–),女,贵州毕节人,硕士研究生,主要从事小麦分子遗传育种研究。(E-mail)1968752543@qq.com

通讯作者:李鲁华, (E-mail)luhua_li@163.com

植物进化过程中,为适应各种生长逆境,建立了一套复杂的免疫系统^[1]。当植物受到外界刺激时,会快速产生活性氧(Reactive oxygen species, ROS)和一氧化氮(Nitric oxide, NO)等氧化还原活性分

子^[2-4]。ROS 不仅可以直接杀死病原菌,还可以作为信号分子参与激活免疫信号通路,从而增强植物的免疫能力^[5]。而 NO 可以与活性氧、植物激素(水杨酸、茉莉酸等)及其他信号分子等互作调节植物免疫力,还可以通过对翻译后的蛋白质修饰调节植物的免疫与抗逆过程。其中,NO 对锌指蛋白 SRG1 的亚硝基化有助于增强植物对逆境胁迫的适应能力^[6-10]。

近年来,SRG1 基因对植物生长发育调控和免疫反应增强作用已有一些初步研究。拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) AtSRG1 基因参与调控蔗糖分配与棉籽糖合成路径,其表达水平显著受热激、冷激、高盐、真菌、茉莉酸(JA)、脱落酸(ABA)等因素诱导,而对乙烯(ET)、水杨酸(SA)的诱导无响应^[11-14]。拟南芥中 AtSRG1 过表达株系下胚轴发育受抑制、叶片面积变小、植物株型变小,而 SRG1 突变体的下胚轴发育、叶片面积及植物株型正常^[10]。Qin 等^[15]研究发现水稻 SRG1 突变体茎秆中的细胞壁薄于野生型,且纤维素含量和半纤维素含量均显著降低,进而影响茎秆的机械强度,同时水稻 SRG1 基因还能通过调节细胞伸长和细胞增殖参与水稻籽粒形状的形成与调控,且 SRG1 在水稻叶片、茎鞘、穗和根等组织中均有表达,其中茎秆、颖花和根中表达量较高。水稻 SRG1 基因还与 BC12、GDD1、MTB1 等基因互作调控水稻的株高、分蘖和细胞壁特征^[16-18]。Fang 等^[19]通过转录组和代谢组分析认为,苦荞麦(*Fagopyrum tartaricum*) SRG1 基因参与调控籽粒发育。Truesdell 等^[20]研究认为紫苜蓿中 SRG1 基因的表达不受炭疽菌诱导,但受非生物胁迫的诱导。

针对目前小麦(*Triticum aestivum* L.)中 SRG1 基因生物信息学特征和表达模式尚不明确现状,本研究以中国春小麦品种为材料,通过对 TaSRG1 基因的克隆和其编码蛋白质的生物信息学分析,并利用 RT-PCR 和 qRT-PCR 技术分析 TaSRG1 基因在小麦各组织中的表达特征及生物胁迫对其表达量的影响,为 TaSRG1 基因的育种应用提供基础和依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料及方法

本研究以中国春小麦为材料,取 40 粒均匀一致的种子种植于国家小麦改良中心贵州分中心温室内

(光照时间 16 h/d,恒温 25 ℃,相对湿度 85%),用霍格兰营养液水培,每 3 d 更换 1 次营养液。当小麦生长至 15 d 时,随机取 8 株获得小麦根、茎鞘和叶片等组织,用液氮速冻,存放于-80 ℃冰箱中。剩余 32 株平均分为 4 组,分别进行 50 μmol/L 脱落酸(ABA)、100 μmol/L 茉莉酸甲酯(MeJA)、250 mmol/L 氯化钠(NaCl)和 20% PEG 6000(聚乙二醇)^[21]4 个不同的胁迫处理,并于处理后 0 h、3 h、6 h、9 h、12 h、24 h、48 h、72 h 取小麦植株叶片,用液氮速冻,存放于-80 ℃冰箱中供后续试验用。

1.2 总 RNA 提取与 cDNA 的合成

根据植物总 RNA 提取试剂盒(美国 OMEGA 公司产品)说明书分别提取 15 d 苗龄小麦幼苗根、茎鞘、叶片等组织及不同胁迫处理和不同胁迫时间的小麦叶片总 RNA,用 Evolution 220 紫外可见分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司产品)检测 RNA 浓度,利用 1%琼脂糖凝胶电泳检测其质量,并利用 HiScript III RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)试剂盒(南京诺唯赞生物科技有限公司产品)反转录得到 cDNA。

1.3 TaSRG1 基因的克隆

以中国春小麦 15 d 苗龄叶片的 cDNA 为模板,使用 2×Phanta Max Master Mix 高保真 DNA 聚合酶(南京诺唯赞生物科技有限公司产品)及特异性引物(表 1)对小麦 TaSRG1 基因进行克隆扩增。PCR 产物用 1%凝胶电泳检测获得的目的条带,并送生工生物工程(上海)股份有限公司测序,测序结果与 Ensembl plants 植物基因组数据库(<http://plants.ensembl.org/index.html>)中中国春小麦 TaSRG1 基因的编码序列(CDS)序列进行比对。

表 1 引物序列及用途

Table 1 Primer sequence and application

引物名称	引物序列(5'→3')	用途
SRG1-F	ATGGAATCTCTCCCGTCCC	基因克隆
SRG1-R	CTACTTCAGCTTCATCCGATCC	基因克隆
pSRG1-F	ACC CTCGTCTCCAAGTGAACC	RT-PCR
pSRG1-R	CGTCTTCGTCCGCCGTAAGC	RT-PCR
Ta18S-F	TCGGGATCGGAGTAATGA	qRT-PCR
Ta18S-R	TTCGCAGTTGTTCTCTT	qRT-PCR
qSRG1-F	ATGGCGGAGAACTTGGGACTG	qRT-PCR
qSRG1-R	GCTCAGGAGATCAGCGTCAGAG	qRT-PCR

1.4 生物信息学分析

利用 ExPASy-ProtParam、SignalP 3.0、Server 和 ProtScale 等在线软件对 *TaSRG1* 蛋白的理化性质、信号肽、亲疏水性进行分析;利用 NCBI 中 Conserved Domain Search 模块对 *TaSRG1* 蛋白进行保守结构域预测;利用 TMHMM 和 NetPhos 3.1Server 软件对 *TaSRG1* 蛋白氨基酸序列进行跨膜结构域预测;利用 Novopro 和 SWISS-MODEL 在线网站进行 *TaSRG1* 蛋白的二级和三级结构预测;利用 NCBI 数据库获取小麦 (*Triticum aestivum* L.)、玉米 (*Zea mays*)、谷子 (*Setaria italica*)、二粒小麦 (*Triticum dicoccoides*)、乌拉尔图小麦 (*Triticum urartu*)、大麦 (*Hordeum vulgare* subsp. *vulgare*)、二穗短柄草 (*Brachypodium distachyon*)、硬直黑麦草 (*Lolium rigidum*)、短花稻 (*Oryza brachyantha*)、光稈稻 (*Oryza glaberrima*)、水稻日本晴 (*Oryza sativa Japonica* Group)、高粱 (*Sorghum bicolor* L.)、多年生草 (*Panicum hallii*)、糜子 (*Panicum miliaceum*)、油棕 (*Elaeis guineensis*)、刺子莞 (*Rhynchospora pubera*) 等物种的 *SRG1* 蛋白氨基酸序列,利用 MEGA11 软件构建上述物种 *SRG1* 蛋白的系统进化树;利用 DNAMAN 软件对 *TaSRG1* (小麦) 与 *TdSRG1* (二粒小麦)、*TuSRG1* (乌拉尔图小麦)、*OsSRG1* (粳稻)、*ZmSRG1* (玉米) 和 *SbSRG1* (高粱) 6 个基因编码的蛋白质氨基酸序列进行比对。

1.5 *TaSRG1* 基因表达水平分析

利用中国春小麦的根、茎、叶 cDNA, 以及 2× Phanta Max Master Mix 高保真 DNA 聚合酶(南京诺唯赞生物科技有限公司产品)和特异性引物(表 1) 进行 RT-PCR, 检测 *TaSRG1* 在各组织的表达情况。PCR 反应程序如下: 94.0 °C 预变性 3 min; 94.0 °C 变性 30 s, 63.9 °C 退火/延伸 30 s, 35 个循环; 72.0 °C 延伸 5 min。产物用 1% 琼脂糖凝胶进行电泳检测。

以 *Ta18S* 为内参基因, 利用 CFX 96 Touch 荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司产品)对中国春小麦根、茎、叶的 *TaSRG1* 及不同胁迫处理和不同胁迫时间的小麦叶片 *TaSRG1* 进行荧光定量 PCR 反应 (qRT-PCR), 明确 *TaSRG1* 基因在各组织中的相对表达量。qRT-PCR 反应体系为: 2×Talent qPCR PreMix 10.0 μL、RNase-Free ddH₂O 7.8 μL、cDNA 模板 1.0 μL、正向引物 0.6 μL、反向引物 0.6 μL。qRT-PCR 程序为 95.0 °C 预变性 3 min; 95.0 °C 变

性 5 s, 64.1 °C 退火 15 s, 循环 40 次。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因的相对表达量。每个样品设置 3 次重复。

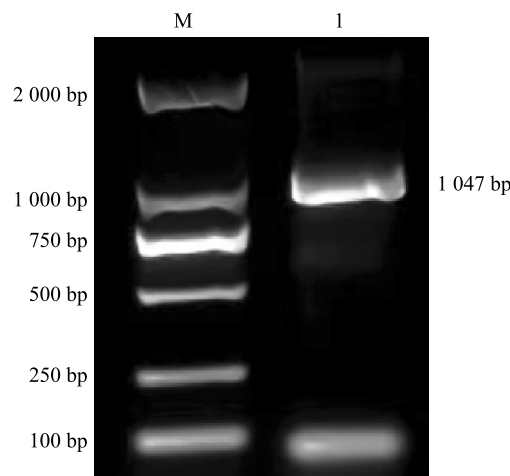
1.6 数据分析

使用 Excel 2010 软件进行数据整理和分析, 利用 Adobe Illustrator 2021 软件制图, 采用单尾 *t* 检验进行处理间差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 *TaSRG1* 基因的克隆

用出苗后 15 d 中国春植株幼叶的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增, 并用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测目的条带, 结果如图 1 所示。从图中可以看出, 约 1 047 bp 处有条带, 产物测序结果与 Ensembl plants 数据库中中国春小麦 *TaSRG1* 基因的编码序列 (CDS) 一致。



M: D2000 DNA 标记; 1: *TaSRG1* 基因。

图 1 *TaSRG1* 基因 PCR 产物电泳结果

Fig.1 Electrophoretogram of *TaSRG1* PCR products

2.2 *TaSRG1* 蛋白的理化性质

ExPASy-ProtParam 预测的 *TaSRG1* 蛋白分子式为 C₁₇₄₆H₂₇₂₂N₄₇₈O₅₁₇S₁₁, 相对分子量为 39 034.37, 氨基酸数量为 348 个, 其组成如图 2 所示。其中, 亮氨酸的数量高达 32 个, 占氨基酸总数的 9.2%。*TaSRG1* 蛋白的理论等电点为 5.31, 带负电荷的氨基酸残基总数 (Asp+Glu) 为 48 个, 带正电荷的氨基酸残基总数 (Arg+Lys) 为 37 个。*TaSRG1* 蛋白的脂肪指数为 85.75, 不稳定指数为 35.67, 表明此蛋白质为稳定性蛋白质。

2.3 *TaSRG1* 蛋白功能结构域、信号肽与亲疏水性

利用 NCBI 中的保守域搜索 (Conserved domain

search)工具对 TaSRG1 蛋白的保守域预测结果显示,TaSRG1 蛋白含 PLN02216 超家族,主要行使次生代谢物生物合成、运输和分解功能的异青霉素 N 合酶及其相关的双加氧酶超家族(PcbC),具有 2-酮戊二酸/Fe(II)依赖性双加氧酶活性蛋白质的 N-末端非血红素双加氧酶超家族(DIOX-N)(图 3A)。TaSRG1 蛋白无信号肽,*D* 值(原始切割位点评分)为 0.120,推测 TaSRG1 蛋白为非分泌蛋白(图 3B)。TaSRG1 蛋白总平均亲水指数为-0.301,其中,疏水性最大的氨基酸位于第 263 位,指数为 1.878,亲水性最大的氨基酸位于第 146 位,指数为-2.622,因此,TaSRG1 蛋白为亲水蛋白(图 3C)。

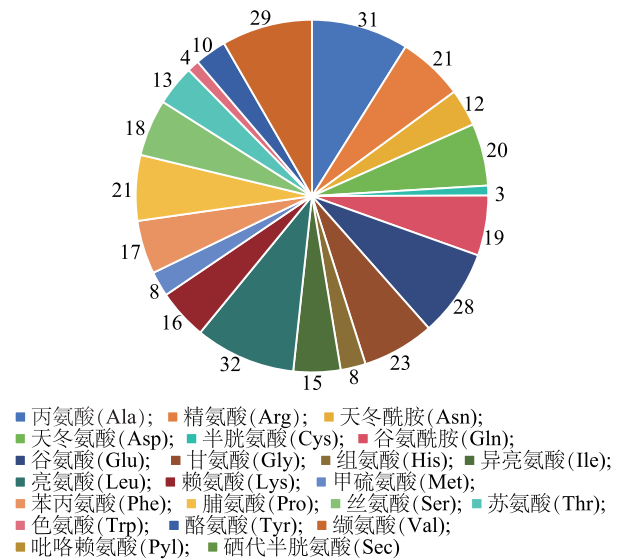
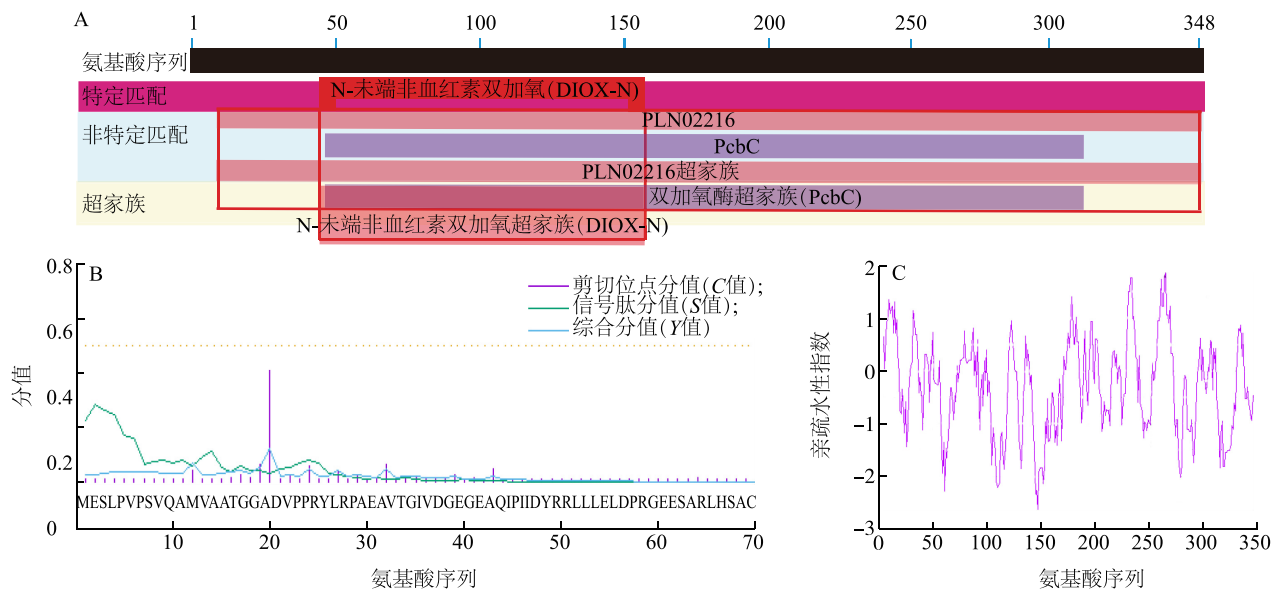


图2 TaSRG1 蛋白的氨基酸组成

Fig.2 Amino acid composition of TaSRG1 protein



A: 保守结构域; B: 信号肽; C: 亲疏水性。

图3 TaSRG1 蛋白的保守结构域、信号肽及亲疏水性预测

Fig.3 Prediction of conserved domain, signal peptide and hydrophilicity of TaSRG1 protein

2.4 TaSRG1 蛋白跨膜结构域、亚细胞定位及磷酸化位点预测

TaSRG1 蛋白的底部蓝色膜内线与中间黄色膜外线之间无明显跨膜区域,因此推测其为非跨膜蛋白(图 4A)。TaSRG1 蛋白亚细胞定位于细胞质。TaSRG1 蛋白共有 23 个磷酸化位点,其中,丝氨酸(Serine)、苏氨酸(Threonine)、酪氨酸(Tyrosine)的磷酸化位点分别有 15 个、6 个和 2 个。第 221 位、第 224 位、第 248 位丝氨酸以及第 319 位酪氨酸的

势能值均高于 0.950(图 4B)。

2.5 TaSRG1 蛋白二、三级结构预测

TaSRG1 蛋白的二级结构如图 5A 所示。从图中可以看出,TaSRG1 蛋白中螺旋、无规则卷曲和延伸链结构分别占 44.83%、37.36%、17.81%。TaSRG1 蛋白的三级结构如图 5B 所示。以双加氧酶结构域的氨基酸序列为模板,TaSRG1 蛋白的全球模型质量评估(GMQE)值为 0.92,表明本研究所建立的 TaSRG1 蛋白三级结构准确性和可信度较高。

2.6 *TaSRG1* 蛋白进化及同源氨基酸序列比对

小麦 *TaSRG1* 蛋白与玉米、谷子等 15 个物种 *SRG1* 蛋白的系统进化树如图 6 所示。从图中可以看出, *TaSRG1* 蛋白与二粒小麦、乌拉尔图小麦、大麦 *SRG1* 蛋白亲缘关系最近。小麦 *TaSRG1* 蛋白与 *TdSRG1*、*TuSRG1*、*OsSRG1*、*ZmSRG1* 和 *SbSRG1* 5 个蛋

白的氨基酸序列比对结果如图 7 所示。 *TaSRG1* 蛋白与 *TdSRG1*、*TuSRG1*、*OsSRG1*、*ZmSRG1* 和 *SbSRG1* 等蛋白的同源性分别为 93.99%、89.89%、66.12%、62.57%、61.20%。由上可知, *TaSRG1* 与 *TdSRG1* 在生物学功能上较为接近。

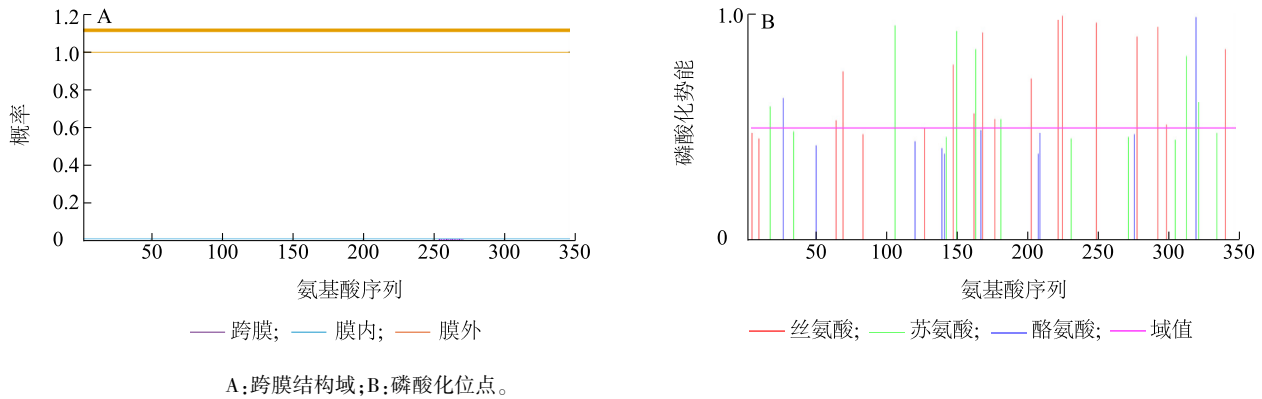
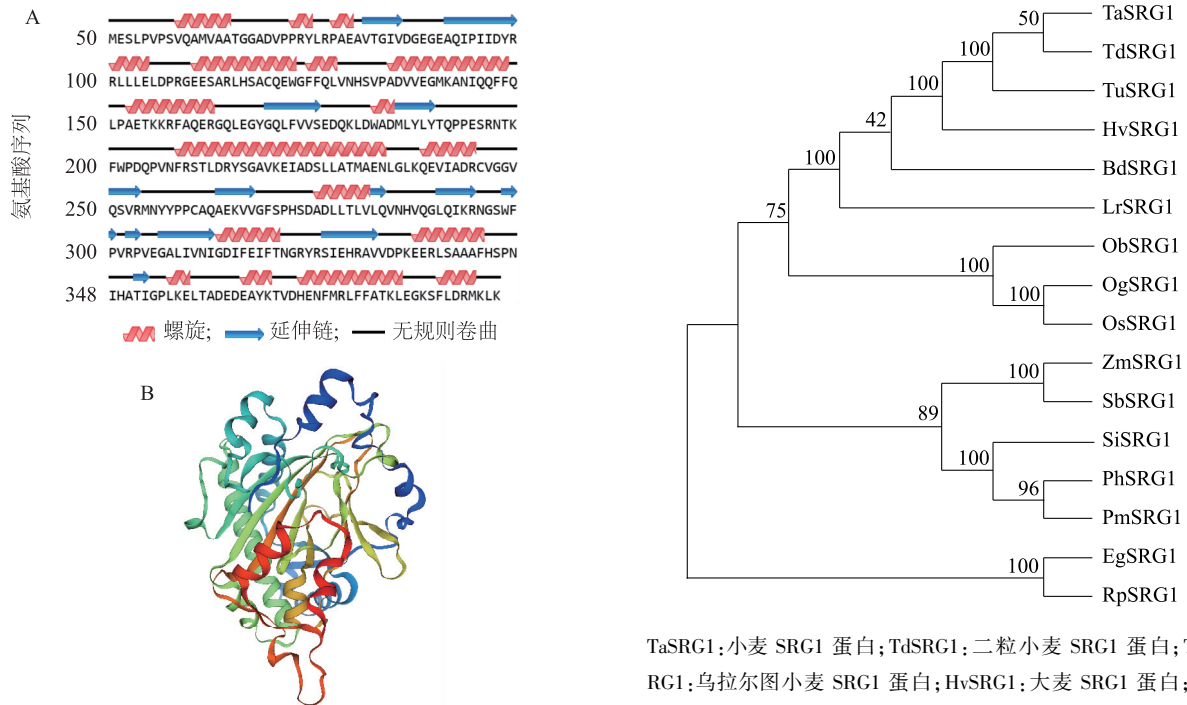


图 4 *TaSRG1* 蛋白跨膜结构域及磷酸化位点预测

Fig.4 Prediction of transmembrane domain and phosphorylation site of *TaSRG1* protein



A: 二级结构; B: 三级结构。

图 5 *TaSRG1* 蛋白的二级结构及三级结构预测

Fig.5 Secondary structure and tertiary structure prediction of *TaSRG1* protein

2.7 *TaSRG1* 基因启动子顺式作用元件

小麦 *TaSRG1* 基因启动子区共有 18 种顺式作

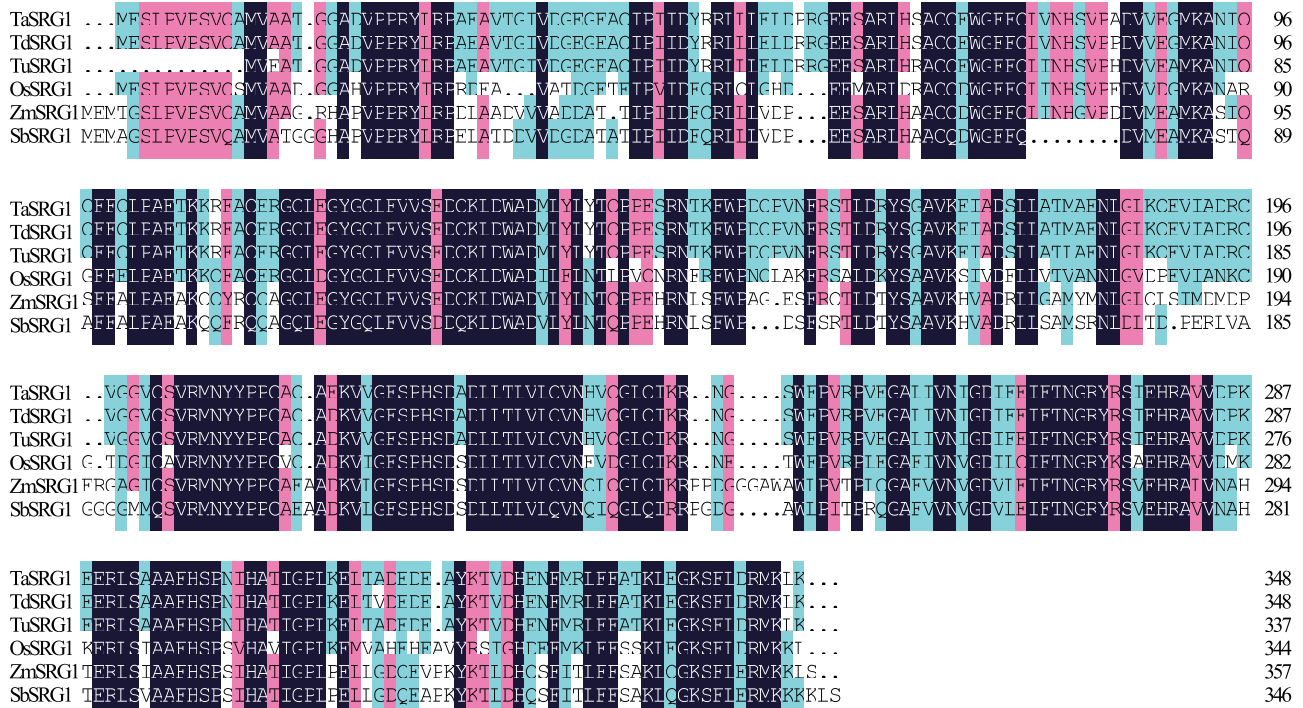
TaSRG1: 小麦 *SRG1* 蛋白; *TdSRG1*: 二粒小麦 *SRG1* 蛋白; *TuSRG1*: 乌拉尔图小麦 *SRG1* 蛋白; *HvSRG1*: 大麦 *SRG1* 蛋白; *BdSRG1*: 二穗短柄草 *SRG1* 蛋白; *LrSRG1*: 硬直黑麦草 *SRG1* 蛋白; *ObSRG1*: 短花稻 *SRG1* 蛋白; *OgSRG1*: 光稃稻 *SRG1* 蛋白; *OsSRG1*: 水稻日本晴 *SRG1* 蛋白; *ZmSRG1*: 玉米 *SRG1* 蛋白; *SbSRG1*: 高粱 *SRG1* 蛋白; *SiSRG1*: 谷子 *SRG1* 蛋白; *PhSRG1*: 多年生草 *SRG1* 蛋白; *PmSRG1*: 糜子 *SRG1* 蛋白; *EgSRG1*: 油棕 *SRG1* 蛋白; *RpSRG1*: 刺子莞 *SRG1* 蛋白。

图 6 *SRG1* 同源蛋白的系统进化树分析

Fig.6 Phylogenetic tree analysis of *SRG1* homologous proteins

用元件,包括常见的光反应元件(G-box、Sp1、ACA-motif、AE-box、GT1-motif、TCT-motif)、转录起始-30区核心启动子元件(TATA-box)、参与昼夜节律控制顺式作用调节元件(Circadian)及启动子和增强子顺式作用元件(CAAT-box),还包含脱落酸响应元件(ABRE)、水杨酸响应元件(TCA-element)、茉莉酸甲酯诱导元件(TGACG-motif、CGTCA-motif)、赤霉素反

应元件(P-box)和生长素(TGA-element)反应元件等5种植物激素作用元件和参与胚乳表达顺式调控元件(GCN4_motif)、参与玉米醇溶蛋白代谢调节的顺式作用调节元件(O₂-site)和厌氧诱导调节元件(ARE)等特殊元件。上述作用元件说明 *TaSRG1* 基因可能参与小麦激素代谢和种子发育过程的调控。



TaSRG1: 小麦 *SRG1* 蛋白; *TdSRG1*: 二粒小麦 *SRG1* 蛋白; *TuSRG1*: 乌拉尔图小麦 *SRG1* 蛋白; *OsSRG1*: 水稻 *SRG1* 蛋白; *ZmSRG1*: 玉米 *SRG1* 蛋白; *SbSRG1*: 高粱 *SRG1* 蛋白。

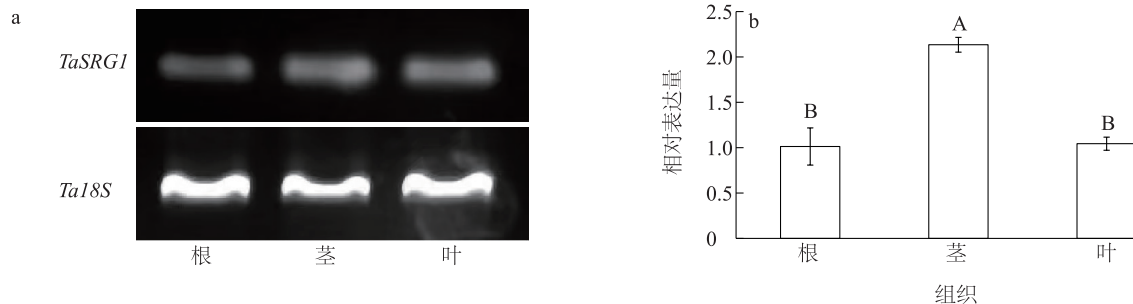
图 7 不同物种 *SRG1* 蛋白的氨基酸序列比对

Fig.7 Amino acid sequence alignment of *SRG1* proteins in different species

2.8 小麦 *TaSRG1* 基因的组织表达特征

15 d 苗龄的中国春小麦幼苗根、茎、叶中 *TaSRG1* 基因的表达特征如图 8 所示。从图中可以看

出, *TaSRG1* 在小麦根、茎、叶中均有表达, 茎中的相对表达量约为根的 2 倍, 叶片中的相对表达量与根无显著差异。



图柱上不同大写字母表示组织间相对表达量差异极显著 ($P < 0.01$)。

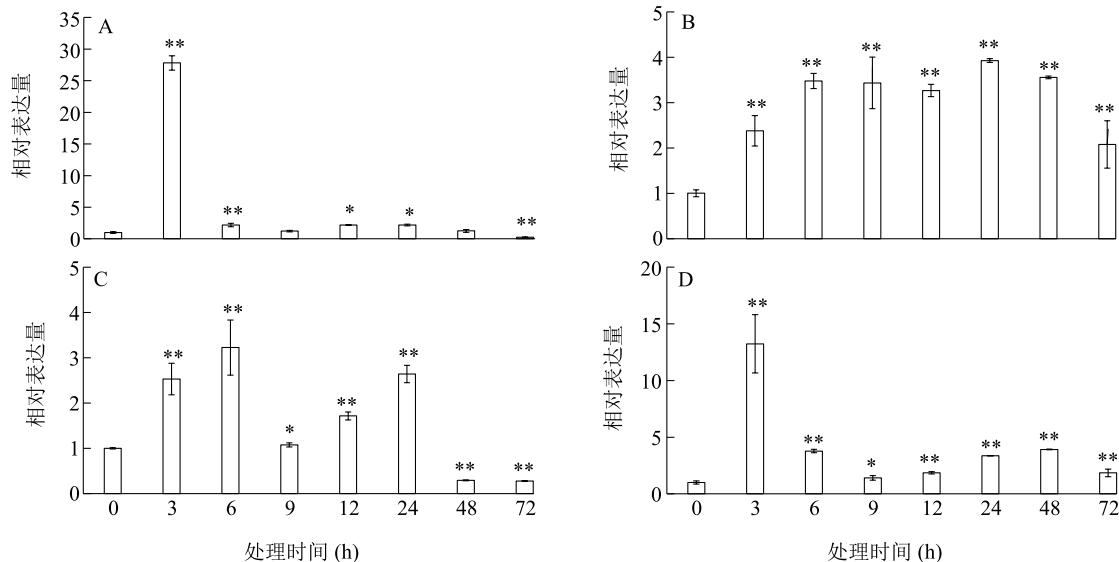
图 8 *TaSRG1* 基因的组织表达特征

Fig.8 Expression characteristics of *TaSRG1* gene

2.9 *TaSRG1* 基因的诱导表达

15 d 苗龄的中国春小麦幼苗受到 50 $\mu\text{mol/L}$ ABA、100 $\mu\text{mol/L}$ MeJA、250 mmol/L NaCl、20% PEG 6000 胁迫后,叶片中 *TaSRG1* 基因相对表达量随胁迫时间的变化特征如图 9 所示。从图中可以看出,脱落酸(ABA)、茉莉酸甲酯(MeJA)、聚乙二醇(PEG 6000)和氯化钠(NaCl)处理后3~72 h, *TaSRG1* 基因的相对表达量有不同程度的变化。50 $\mu\text{mol/L}$ ABA 处理后3 h,叶片 *TaSRG1* 基因相对表达量最高,随后

相对表达量降低;100 $\mu\text{mol/L}$ MeJA 处理后3~72 h,叶片 *TaSRG1* 基因相对表达量总体呈先增加后减少的趋势,处理后24 h 相对表达量最高。20% PEG 6000 处理后3~24 h,叶片 *TaSRG1* 基因相对表达量增加,其中,处理后6 h 最高;处理后48~72 h,相对表达量显著下降。250 mmol/L NaCl 处理后3 h,叶片 *TaSRG1* 基因相对表达量最高。因此,可以认为小麦 *TaSRG1* 基因受 ABA 和 MeJA 的诱导表达,并在小麦应对干旱、盐胁迫中发挥调节功能。



A:脱落酸(ABA);B:茉莉酸甲酯(MeJA);C:聚乙二醇(PEG 6000);D:氯化钠(NaCl)。柱上**和*分别表示其与处理始期(0 h)相对表达量相比差异极显著($P<0.01$)和差异显著($P<0.05$)。

图9 胁迫环境下 *TaSRG1* 基因的表达特征

Fig.9 Expression characteristics of *TaSRG1* gene under stress environment

3 讨论与结论

小麦是世界上总产量第二的粮食作物^[22],其产量和品质对粮食安全和人类健康起着重要作用^[23]。前人以拟南芥和水稻为研究材料,发现 *SRG1* 基因与植物免疫反应和生长发育密切相关^[10,15]。本研究以中国春小麦为材料克隆并分析 *SRG1* 基因的生物学功能,对提高小麦产量及品质有着重要意义。

拟南芥、水稻中 *SRG1* 蛋白定位于细胞核,与植物免疫应答和籽粒性状有关^[15],而本试验预测小麦 *TaSRG1* 蛋白亚细胞定位于细胞质。胁迫诱导试验结果显示 *SRG1* 基因响应脱落酸、茉莉酸甲酯、氯化钠和聚乙二醇等胁迫,这与 *TaSRG1* 基因启动子顺式作用元件中含 ABA 和 MeJA 反应元件相一致,这进一步证实了 *SRG1* 基因参与逆境胁迫响应^[10]。此

外, *TaSRG1* 基因启动子顺式作用元件中还含有胚乳作用元件,推测该基因与水稻 *OsSRG1* 基因一样参与籽粒的发育过程^[15]。

TaSRG1 蛋白的生物信息学分析结果表明, *TaSRG1* 是一个亲水性稳定蛋白,结构域上含 PLN02216、PcbC 和 DOIX-N 超家族 PLN02216 超家族是一类保守的蛋白质结构域家族,家族成员通常与植物的应激反应、信号传导途径和多种代谢途径有关^[24]。PcbC 和 DOIX-N 超家族中均含双加氧酶,推测 *TaSRG1* 蛋白可能参与代谢物的合成、运输与分解。*SRG1* 蛋白的三级结构模型亦显示其为双加氧酶结构域的蛋白质。*TaSRG1* 蛋白氨基酸序列中含 23 个磷酸化位点,这些位点可能与 *TaSRG1* 蛋白功能的发挥相关。进化树分析与同源序列的比对结果显示,小麦 *SRG1* 基因与二粒小麦更为接近。

TaSRG1 基因启动子区含有脱落酸、生长素、赤霉素、水杨酸和茉莉酸甲酯等 5 种植物激素反应元件,因此,*TaSRG1* 蛋白可能通过激素途径调控植物生长发育。此外,*TaSRG1* 基因启动子区还含有可能与小麦胚乳发育相关的胚乳表达元件,但相关机制还有待进一步分析。*TaSRG1* 基因表达特征显示,该基因在小麦根、茎、叶中均有表达,且茎中表达量最高;同时,该基因还受 ABA、MeJA 等因素以及干旱、盐胁迫诱导表达,这与水稻 *OsSRG1* 基因的表达特征^[17-18]一致。本研究结果为小麦 *TaSRG1* 基因功能的深入研究和利用提供基础。

参考文献:

- [1] 吴玉俊,吴旺泽. 植物模式识别受体与先天免疫[J]. 植物生理学报,2021,57(2):301-312.
- [2] GRANT J J, LOAKE G J. Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance[J]. Plant Physiology,2000,124(1):21-29.
- [3] GUPTA K J, FERNIE A R, KAISER W M, et al. On the origins of nitric oxide[J]. Trends in Plant Science,2011,16(3):160-168.
- [4] YU M D, LAMATTINA L, SPOEL S H, et al. Nitric oxide function in plant biology:a redox cue in deconvolution[J]. New Phytologist,2014,202(4):1142-1156.
- [5] TORRES M A, DANGL J L, JONES J D G, et al. *Arabidopsis* gp91phox homologues AtrbohD and AtrbohF are required for accumulation of reactive oxygen intermediates in the plant defense response[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2002,99(1):517-522.
- [6] PARANI M, RUDRABHATLA S, MYERS R, et al. Microarray analysis of nitric oxide responsive transcripts in *Arabidopsis* [J]. Plant Biotechnology Journal,2004,2(4):359-366.
- [7] ZAGO E, MORSA S, DAT J F, et al. Nitric oxide- and hydrogen peroxide-responsive gene regulation during cell death induction in tobacco[J]. Plant Physiology,2006,141(2):404-411.
- [8] PALMIERI M C, SELL S, HUANG X, et al. Nitric oxide-responsive genes and promoters in *Arabidopsis thaliana*:a bioinformatics approach[J]. Journal of Experimental Botany,2008,59(2):177-186.
- [9] BELLIN D, ASAI S T, DELLEDONNE M, et al. Nitric oxide as a mediator for defense responses[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions,2013,26(3):271-277.
- [10] CUI B M, PAN Q N, CLARKE D, et al. S-nitrosylation of the zinc finger protein SRG1 regulates plant immunity[J]. Nat Commun,2018,9(1):4226.
- [11] CUI B M, XU S W, LI Y, et al. The *Arabidopsis* zinc finger proteins SRG2 and SRG3 are positive regulators of plant immunity and are differentially regulated by nitric oxide[J]. New Phytologist,2021,230(1):259-274.
- [12] CHO S M, KANG E Y, KIM M S, et al. Jasmonate-dependent expression of a galactinol synthase gene is involved in priming of systemic fungal resistance in *Arabidopsis thaliana* [J]. Botany,2010,88(5):452-461.
- [13] LIU J J J, KRENZ D C, GALVEZ A F, et al. Galactinol synthase (GS):increased enzyme activity and levels of mRNA due to cold and desiccation[J]. Plant Science,1998,134(1):11-20.
- [14] PANIKULANGARA T J, EGGERS-SCHUMACHER G, WUNDERLICH M, et al. Galactinol synthase:a novel heat shock factor target gene responsible for heat-induced synthesis of raffinose family oligosaccharides in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology,2004,136(2):3148-3158.
- [15] QIN R, AKHTER D, YANG C C, et al. SRG1, encoding a kinesin-4 protein, is an important factor for determining grain shape in rice[J]. Rice Science,2018,25(6):297-307.
- [16] ZHANG M, ZHANG B C, QIAN Q, et al. Brittle Culm 12, a dual-targeting kinesin-4 protein, controls cell-cycle progression and wall properties in rice[J]. Plant Journal,2010,63(2):312-328.
- [17] LI J, JIANG J F, QIAN Q, et al. Mutation of rice BC12/GDD1 which encodes a kinesin-like protein that binds to a GA biosynthesis gene promoter, leads to dwarfism with impaired cell elongation [J]. The Plant Cell,2011,23(2):628-640.
- [18] YU H P, REN D Y, ZHU Y Z, et al. Multi-tillering dwarf1, a new allele of brittle culm 12, affects plant height and tiller in rice [J]. Sci Bull,2016,61(23):1810-1817.
- [19] FANG X M, WANG Y Q, CUI J B, et al. Transcriptome and metabolome analyses reveal the key genes related to grain size of big grain mutant in Tartary Buckwheat (*Fagopyrum tartaricum*) [J]. Front in Plant Sci,2022,13:1079212.
- [20] TRUESDELL G M, DICKMAN M B. Isolation of pathogen/stress-inducible cDNAs from alfalfa by mRNA differential display [J]. Plant Molecular Biology,1997,33(4):737-743.
- [21] 杜琳颖. 小麦转录因子 TaERF87 与 TaDi19-7 的鉴定及其在非生物胁迫响应中的功能研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2023.
- [22] ABID M, ALI S, QI L K, et al. Physiological and biochemical changes during drought and recovery periods at tillering and jointing stages in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Sci Rep,2018,8(1):4615.
- [23] 赵广才,常旭虹,王德梅,等. 小麦生产概况及其发展[J]. 作物杂志,2018(4):1-7.
- [24] WANG J Y, CHITSAZ F, DERBYSHIRE M K. The conserved domain database in 2023 [J]. Nucleic Acids Res,2023,51(D1):384-388.

(责任编辑:石春林)