

刘丹, 孟庆立, 师亚琴, 等. 甘蓝型油菜 *OSCA* 家族基因鉴定及其在非生物胁迫下的表达分析[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(6): 1050-1062.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2025.06.002

甘蓝型油菜 *OSCA* 家族基因鉴定及其在非生物胁迫下的表达分析

刘丹^{1,2}, 孟庆立¹, 师亚琴¹, 杨少伟¹, 刘娟娟¹, 范春燕¹, 危文亮²

(1. 宝鸡市农业科学研究院, 陕西 宝鸡 722499; 2. 长江大学农学院, 湖北 荆州 434000)

摘要: 钙通透性阳离子通道蛋白 (*OSCA*) 在植物逆境胁迫响应中发挥重要作用。为解析 *BnaOSCA* 家族成员在逆境胁迫下的响应机制, 本研究从甘蓝型油菜的全基因组鉴定到 37 个 *OSCA* 基因, 对 *BnaOSCA* 基因结构及其编码的蛋白质性质和表达模式进行分析。结果表明, 这 37 个 *OSCA* 基因不均匀地分布在 13 条染色体上, 可分为 3 个亚族。同一亚族的成员具有保守的基因结构和保守基序, 且 *BnaOSCA* 家族基因启动子区域含有多种与逆境胁迫和激素响应相关的顺式作用元件。共线性分析结果表明, *BnaOSCA* 家族基因在进化过程中存在基因丢失现象, 同时也发生了基因家族扩张。在盐胁迫和干旱胁迫下, *BnaOSCA* 家族基因的相对表达量存在差异, 表明 *BnaOSCA* 家族基因在逆境胁迫响应过程中发挥不同的调控作用。本研究为进一步完善 *BnaOSCA* 家族基因调控网络提供了基础。

关键词: 甘蓝型油菜; *OSCA* 家族基因; 干旱胁迫; 盐胁迫; 表达模式

中图分类号: S656.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2025)06-1050-13

Identification of the *OSCA* family genes and expression analysis under abiotic stress in *Brassica napus*

LIU Dan^{1,2}, MENG Qingli¹, SHI Yaqin¹, YANG Shaowei¹, LIU Juanjuan¹, FAN Chunyan¹, WEI Wenliang²

(1. Baoji Academy of Agricultural Sciences, Baoji 722499, China; 2. College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434000, China)

Abstract: Hyperosmolarity-gate calcium-permeable channels (*OSCA*) play a significant role in the response of plants to abiotic stress. To elucidate the response mechanism of *BnaOSCA* family members under abiotic stress, this study identified 37 *OSCA* genes from the whole genome of *Brassica napus* and analyzed the gene structure, protein properties, and expression patterns. The results showed that these 37 *OSCA* genes were unevenly distributed on 13 chromosomes and could be divided into three subfamilies. Members of the same subfamily had conserved gene structures and conserved motifs, and the promoter regions of *BnaOSCA* family genes contained a variety of *cis*-acting elements related to abiotic stress and hormone responses. The collinearity analysis results indicated that gene loss occurred during the evolution of the *BnaOSCA* family genes, and gene family expansion also took place. Under salt and drought stress, the relative expression levels of *BnaOSCA* family genes varied, indicating that *BnaOSCA* family genes played different regulatory roles in the response to abiotic stress. This study provides a basis for further perfecting the regulatory network of *BnaOSCA* family genes.

Key words: *Brassica napus*; *OSCA* family genes; drought stress; salt stress; expression pattern

收稿日期: 2024-09-27

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31871661)

作者简介: 刘丹 (1995-), 女, 陕西岐山人, 硕士, 助理农艺师, 主要研究方向作物遗传育种。(E-mail) 1297097523@qq.com

通讯作者: 危文亮, (E-mail) whwenliang@163.com

钙通透性阳离子通道蛋白 *OSCA* (Hyperosmolarity-gate calcium-permeable channels) 是一类非选择性通道, 作为植物中首个被鉴定的渗透压感受型钙离子通道, 在感知胞外渗透压变化和调控植物生长发育中发挥重要作用^[1-3]。

在模式植物拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中,已鉴定出 15 个 OSCA 家族成员,这些成员具有高度保守的氨基酸序列,并携带与植物抗逆性相关的 DUF221 结构域^[4-5]。在大豆(*Glycine max*)中,已鉴定出 21 个 OSCA 家族成员,其中 *GmOSCA3.2* 基因响应干旱胁迫,干旱时在叶片、花和根系中的相对表达量上升,*GmOSCA3.1* 基因响应碱胁迫^[6]。在水稻(*Oryza sativa*)中,已鉴定出 12 个 OSCA 家族成员,在 NaCl、ABA 和 PEG 处理后,10 个 OSCA 基因呈现差异表达^[7]。大麦(*Hordeum vulgare*)中,已鉴定出 14 个 OSCA 家族成员,在干旱胁迫下,*HvOSCA03*、*HvOSCA05* 和 *HvOSCA13* 相对表达量上升^[8]。茄属植物(*Solanum habrochaites*)中的 11 个 OSCA 家族成员能够响应干旱胁迫、低温胁迫和脱落酸处理^[9]。这些研究结果表明,OSCA 家族在植物逆境胁迫响应过程中具有重要作用。

甘蓝型油菜是全球四大主要油料作物之一,其生长易受到干旱胁迫、盐碱胁迫和低温胁迫的影响。在拟南芥、大豆、番茄^[10]和辣椒^[11]等植物中,OSCA 已被深入研究,但甘蓝型油菜 BnaOSCA 家族的研究尚未见报道。本研究拟利用生物信息学方法对油菜 BnaOSCA 家族成员进行系统分析,同时探究 BnaOSCA 基因在盐胁迫和干旱胁迫下的表达模式。

1 材料与方法

1.1 数据获取

从 BnPIR 数据库中下载甘蓝型油菜(*Brassica napus*)的基因组序列、蛋白质氨基酸序列和基因注释文件^[12],从 EnsemblPlants(<https://plants.ensembl.org/index.html>)获取了白菜(*Brassica rapa*)和甘蓝(*Brassica oleracea*)的基因组序列和注释信息^[13];从 TAIR 数据库(<https://www.arabidopsis.org/>)下载拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) OSCA1-15 蛋白氨基酸序列^[14]。

1.2 OSCA 家族成员鉴定

在 BnPIR 数据库中筛选拟南芥 AtOSCA1-15 蛋白的同源氨基酸序列。利用 NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd>)和 SMART(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)在线工具检测候选序列是否含有 OSCA 特征的 DUF221 结构域,剔除无典型结构域的序列,最终确定甘蓝型油菜 OSCA 家族成员。采用相同方法鉴定白菜和甘蓝的 OSCA 家族成员。

1.3 蛋白质理化性质分析和亚细胞定位预测

通过 ExPasy 在线工具(https://web.expasy.org/compute_pi/)计算 BnaOSCA 家族成员的相对分子量、等电点^[15],利用 WoLF PSORT 在线平台(<https://www.genscript.com/wolf-psort.html>)预测亚细胞定位^[16]。

1.4 系统进化树构建

利用 Clustal 软件对拟南芥、甘蓝型油菜、白菜和甘蓝的 OSCA 蛋白氨基酸序列进行比对,利用 MEGA7.0 软件构建系统进化树^[17-18]。

1.5 基因结构和保守基序鉴定

利用 MEME(<https://meme-suite.org/>)鉴定 BnaOSCA 蛋白的保守基序;利用 TBtools^[19]软件获得 BnaOSCA 基因结构。

1.6 基因启动子区域顺式作用元件分析

提取 BnaOSCA 基因启动子上游 2 kb 序列,利用 Plant Care(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)^[20]预测启动子区域的顺式作用元件。

1.7 蛋白质结构预测

利用 SOPMA(https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html)预测二级结构,利用 SWISS-MODEL(<https://swissmodel.expasy.org/interactive>)构建三级结构模型。

1.8 共线性分析和在不同组织中的表达模式分析

利用 TBtools 软件的 McScanX 工具分析甘蓝型油菜、白菜、甘蓝及拟南芥 4 种植物的 OSCA 基因的同线性关系;通过 TBtools 中的 K_a/K_s Calcator 插件计算 K_a/K_s 值。基于 BnPIR 数据库的转录组数据^[21],通过 TBtools 生成不同组织中 BnaOSCA 基因表达热图。

1.9 盐胁迫、干旱胁迫处理

以甘蓝型油菜品种中双 11 号为材料,对四叶期幼苗分别进行盐胁迫(250 mmol/L NaCl Hoagland 溶液)和干旱胁迫(10% PEG6000 Hoagland 溶液)处理。分别在胁迫处理 0 h、1 h、2 h、4 h、8 h、12 h 和 24 h 取样。每个时间点设 3 次生物学重复试验。

1.10 RNA 提取与 qRT-PCR 检测

使用 Plant RNApure Kit 试剂盒(Zomanbio 公司产品)提取叶片总 RNA,并利用琼脂糖凝胶电泳进行检测。使用 EasyScript[®] One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix 试剂盒(Transgen 公司产品)反转录合成 cDNA。通过 qRT-PCR 技术测定盐胁迫和干旱胁迫下 6 个 BnaOSCA 基因的相对表达量。BnaOSCA4、BnaOSCA15、BnaOSCA23、BnaOSCA26、

BnaOSCA31 和 *BnaOSCA36* 及内参基因 *BnaActin* 的引物信息如表 1 所示。

2 结果与分析

2.1 OSCA 家族成员及其理化性质

从 BnPIR 数据库中筛选出 37 个甘蓝型油菜的 *OSCA* 基因。如表 2 所示,这 37 个 *BnaOSCA* 基因编码的蛋白质长度为 585~829 aa,其中 *BnaOSCA9* 蛋白长度最长,*BnaOSCA26* 蛋白长度最短。*BnaOSCA* 蛋白相对分子量为 66 733.61 (*BnaOSCA26*) ~ 95 914.48 (*BnaOSCA33*),等电点(pI)为 6.94(*BnaOSCA17*)~9.55 (*BnaOSCA18*)。37 个 *BnaOSCA* 基因编码的蛋白质均定位于细胞质膜。

表 2 甘蓝型油菜 *OSCA* 家族成员及其理化性质

Table 2 Members of the *OSCA* family in *Brassica napus* and their physicochemical properties

基因		编码的蛋白质				
名称	ID	定位 (bp)	长度 (aa)	相对分子量	等电点	亚细胞定位
<i>BnaOSCA1</i>	BnaA01T0121700ZS	7 070 175~7 073 392	768	87 835.65	8.96	细胞质膜
<i>BnaOSCA2</i>	BnaA01T0196800ZS	11 947 335~11 950 574	762	87 441.30	9.41	细胞质膜
<i>BnaOSCA3</i>	BnaA01T0266400ZS	24 620 558~24 624 361	765	87 066.55	8.51	细胞质膜
<i>BnaOSCA4</i>	BnaA03T0261900ZS	13 863 730~13 868 537	712	81 210.76	9.15	细胞质膜
<i>BnaOSCA5</i>	BnaA03T0268500ZS	14 246 803~14 250 606	769	88 080.77	8.86	细胞质膜
<i>BnaOSCA6</i>	BnaA03T0368600ZS	19 626 567~19 629 539	783	90 142.60	9.17	细胞质膜
<i>BnaOSCA7</i>	BnaA03T0573700ZS	34 100 801~34 105 754	594	67 663.34	8.85	细胞质膜
<i>BnaOSCA8</i>	BnaA03T0589100ZS	43 586 253~43 590 825	796	91 592.87	8.68	细胞质膜
<i>BnaOSCA9</i>	BnaA05T0328100ZS	33 134 838~33 139 184	829	95 848.45	8.67	细胞质膜
<i>BnaOSCA10</i>	BnaA06T0085600ZS	5 112 560~5 115 855	792	90 678.67	8.82	细胞质膜
<i>BnaOSCA11</i>	BnaA07T0309200ZS	27 751 234~27 754 961	715	82 347.68	9.41	细胞质膜
<i>BnaOSCA12</i>	BnaA08T0093100ZS	15 530 175~15 534 115	620	70 985.13	9.13	细胞质膜
<i>BnaOSCA13</i>	BnaA08T0125200ZS	17 924 213~17 927 842	672	76 533.27	7.21	细胞质膜
<i>BnaOSCA14</i>	BnaA08T0177100ZS	21 267 831~21 270 636	812	91 786.79	7.09	细胞质膜
<i>BnaOSCA15</i>	BnaA08T0204400ZS	22 784 139~22 787 943	723	81 981.15	9.27	细胞质膜
<i>BnaOSCA16</i>	BnaA08T0290700ZS	26 990 688~26 995 083	676	77 013.67	9.18	细胞质膜
<i>BnaOSCA17</i>	BnaA09T0156900ZS	9 890 444~9 894 262	779	89 150.59	6.94	细胞质膜
<i>BnaOSCA18</i>	BnaA09T0410100ZS	47 025 808~47 029 480	722	82 221.63	9.55	细胞质膜
<i>BnaOSCA19</i>	BnaA09T0504100ZS	54 136 132~54 139 329	704	80 317.95	8.13	细胞质膜
<i>BnaOSCA20</i>	BnaC01T0150300ZS	10 578 599~10 581 388	768	87 764.57	8.96	细胞质膜
<i>BnaOSCA21</i>	BnaC01T0247700ZS	19 168 184~19 174 556	761	87 311.05	9.35	细胞质膜
<i>BnaOSCA22</i>	BnaC01T0326500ZS	36 349 686~36 354 430	761	86 607.07	8.51	细胞质膜
<i>BnaOSCA23</i>	BnaC03T0312300ZS	20 881 480~20 886 022	700	79 780.01	8.83	细胞质膜
<i>BnaOSCA24</i>	BnaC03T0322100ZS	21 834 819~21 838 740	769	88 048.72	8.86	细胞质膜
<i>BnaOSCA25</i>	BnaC03T0449800ZS	31 533 334~31 536 303	756	86 820.79	9.32	细胞质膜
<i>BnaOSCA26</i>	BnaC03T0665400ZS	64 340 495~64 344 184	585	66 733.61	9.36	细胞质膜
<i>BnaOSCA27</i>	BnaC03T0701200ZS	67 607 010~67 609 799	808	91 490.58	7.50	细胞质膜
<i>BnaOSCA28</i>	BnaC03T0728500ZS	70 369 463~70 373 158	802	91 602.23	8.44	细胞质膜
<i>BnaOSCA29</i>	BnaC04T0225600ZS	29 612 805~29 617 854	765	86 988.49	8.49	细胞质膜
<i>BnaOSCA30</i>	BnaC04T0242100ZS	33 932 890~33 945 433	768	88 116.63	8.98	细胞质膜
<i>BnaOSCA31</i>	BnaC05T0105600ZS	6 319 526~6 322 866	768	87 839.21	8.83	细胞质膜
<i>BnaOSCA32</i>	BnaC05T0262400ZS	21 607 655~21 611 553	722	82 087.48	9.48	细胞质膜
<i>BnaOSCA33</i>	BnaC05T0345100ZS	38 295 171~38 299 523	829	95 914.48	8.71	细胞质膜

表 1 引物序列

Table 1 Sequences of primers

基因	引物序列 (5'→3')
<i>BnaActin</i>	F:GTGACAATGGAAGTGGAAATGGTGA R:GTGCCTAGGACGACCAACAATACTC
<i>BnaOSCA4</i>	F:ACACAGACACGAAACCCAA R:TCAATGCCCTCAATGGTAG
<i>BnaOSCA15</i>	F:CTTCTCTTGCCGACTCTAC R:TGTGACTACGGATACCCAG
<i>BnaOSCA23</i>	F:CTTCTGCCATCCATACTG R:GATTGGAGACTGGTTGAG
<i>BnaOSCA26</i>	F:GTAATCGCTCTCTAATCC R:TCCCAAGTAACCAAACATA
<i>BnaOSCA31</i>	F:AGTCCATTAGTGAGACTGTC R:TCTTTATCCTTGGTCTTTG
<i>BnaOSCA36</i>	F:TATGCGTAGTCTCGTCTC R:TCTCGTCTCGGTAGTTTC

续表2 Continued2

名称	基因		编码的蛋白质			
	ID	定位 (bp)	长度 (aa)	相对分子量	等电点	亚细胞定位
<i>BnaOSCA34</i>	BnaC06T0358900ZS	46 052 550~46 056 116	715	82 486.83	9.37	细胞质膜
<i>BnaOSCA35</i>	BnaC08T0133200ZS	23 602 702~23 606 709	761	87 133.06	9.20	细胞质膜
<i>BnaOSCA36</i>	BnaC08T0199100ZS	30 656 643~30 660 803	761	86 104.87	9.01	细胞质膜
<i>BnaOSCA37</i>	BnaC08T0345600ZS	42 046 062~42 049 331	705	80 204.73	8.16	细胞质膜

2.2 OSCA 基因染色体定位和系统进化树分析

基于 15 个拟南芥的 OSCA 蛋白氨基酸序列, 37 个甘蓝型油菜的 OSCA 蛋白氨基酸序列、19 个白菜的 OSCA 蛋白氨基酸序列、17 个甘蓝的 OSCA 蛋白氨基酸序列和 14 个辣椒的 OSCA 蛋白氨基酸序列构建系统进化树。如图 1 所示, 102 个 OSCA 蛋白被分为 3 个亚族, 其中第 I 亚族包含 7 个 OSCA 蛋白, 第 II 亚族包含 42

个 OSCA 蛋白, 第 III 亚族包含 53 个 OSCA 蛋白, 同一亚族的 OSCA 基因同源性较高, 它们可能具有相似的功能。如图 2 所示, 37 个 OSCA 基因不均匀地分布在 13 条染色体上。A 基因组中含有 19 个 OSCA 基因, 其中 A03 和 A08 染色体上的 OSCA 基因数量较多, 分别含有 5 个 OSCA 基因。C 基因组中含有 18 个 OSCA 基因, 其中 C03 染色体上的 OSCA 基因数量较多, 含有 6 个 OSCA 基因。

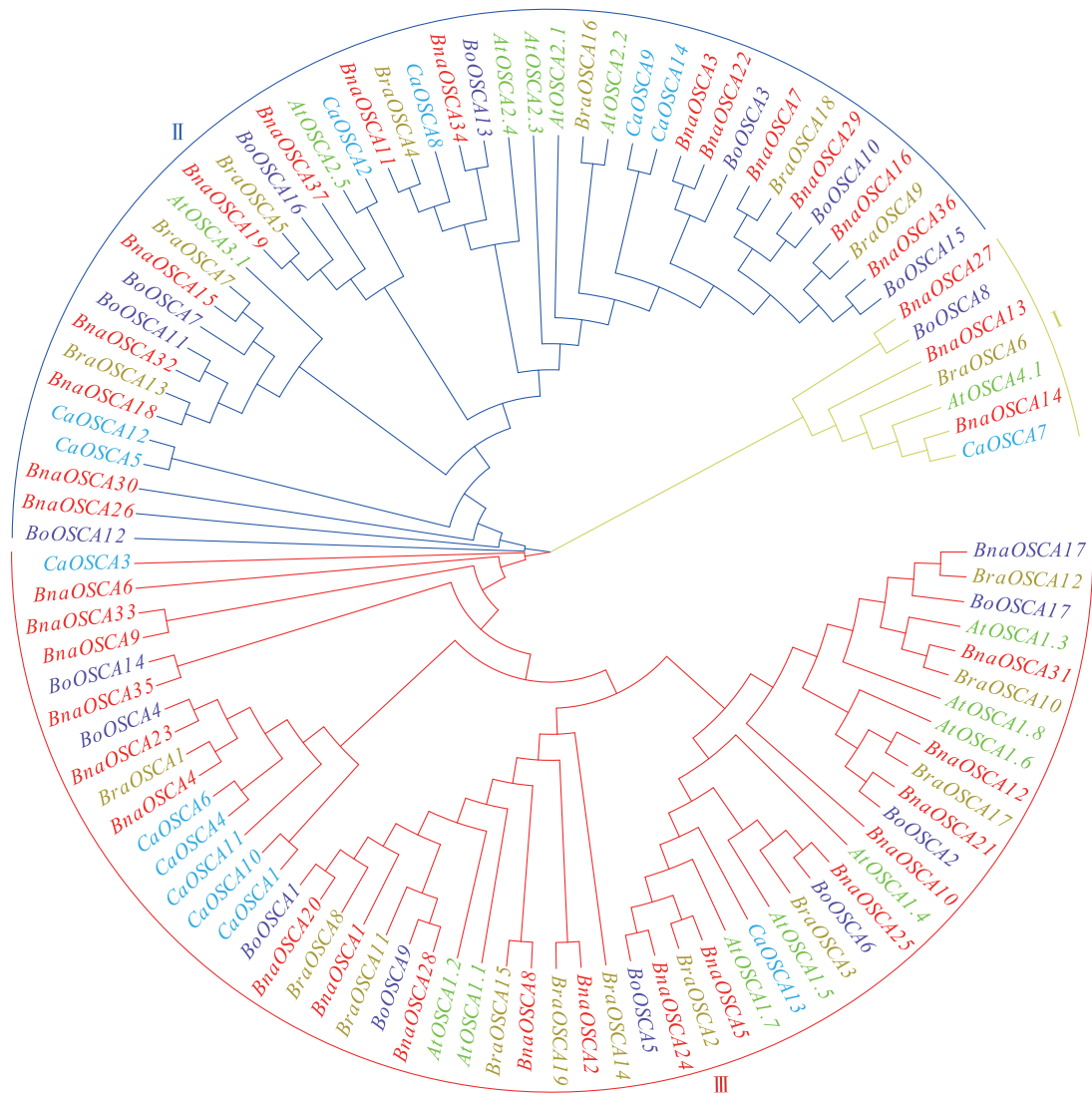
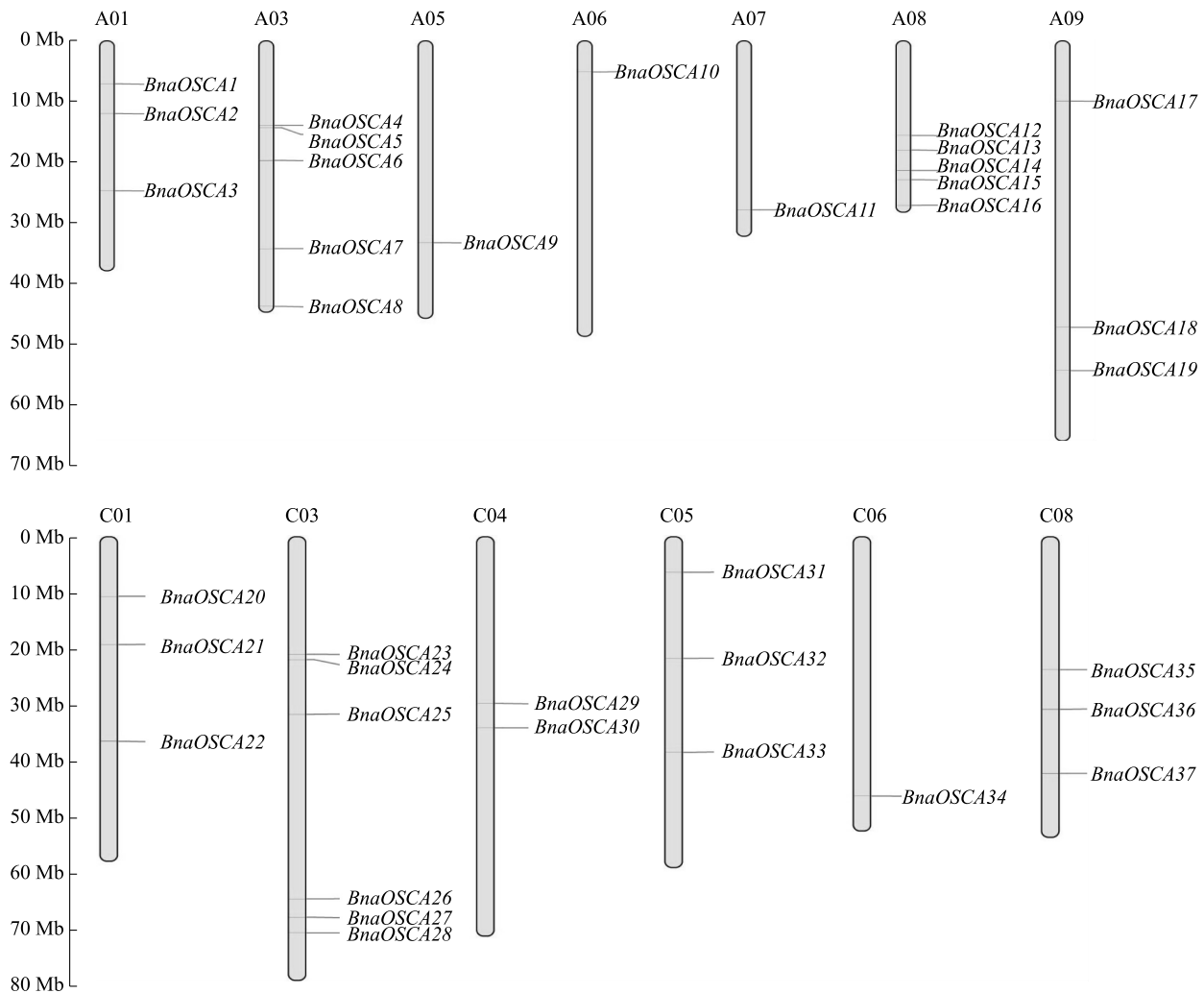


图 1 拟南芥、甘蓝型油菜、白菜、甘蓝 OSCA 基因的系统进化树

Fig.1 Phylogenetic tree of OSCA genes in *Arabidopsis thaliana*, *Brassica napus*, *Brassica rapa* and *Brassica oleracea*



A 基因组来自芸薹属的白菜 (*Brassica rapa*); C 基因组来自芸薹属的甘蓝 (*Brassica oleracea*)。

图 2 甘蓝型油菜 *OSCA* 基因的染色体定位

Fig.2 Chromosomal localization of *OSCA* genes in *Brassica napus*

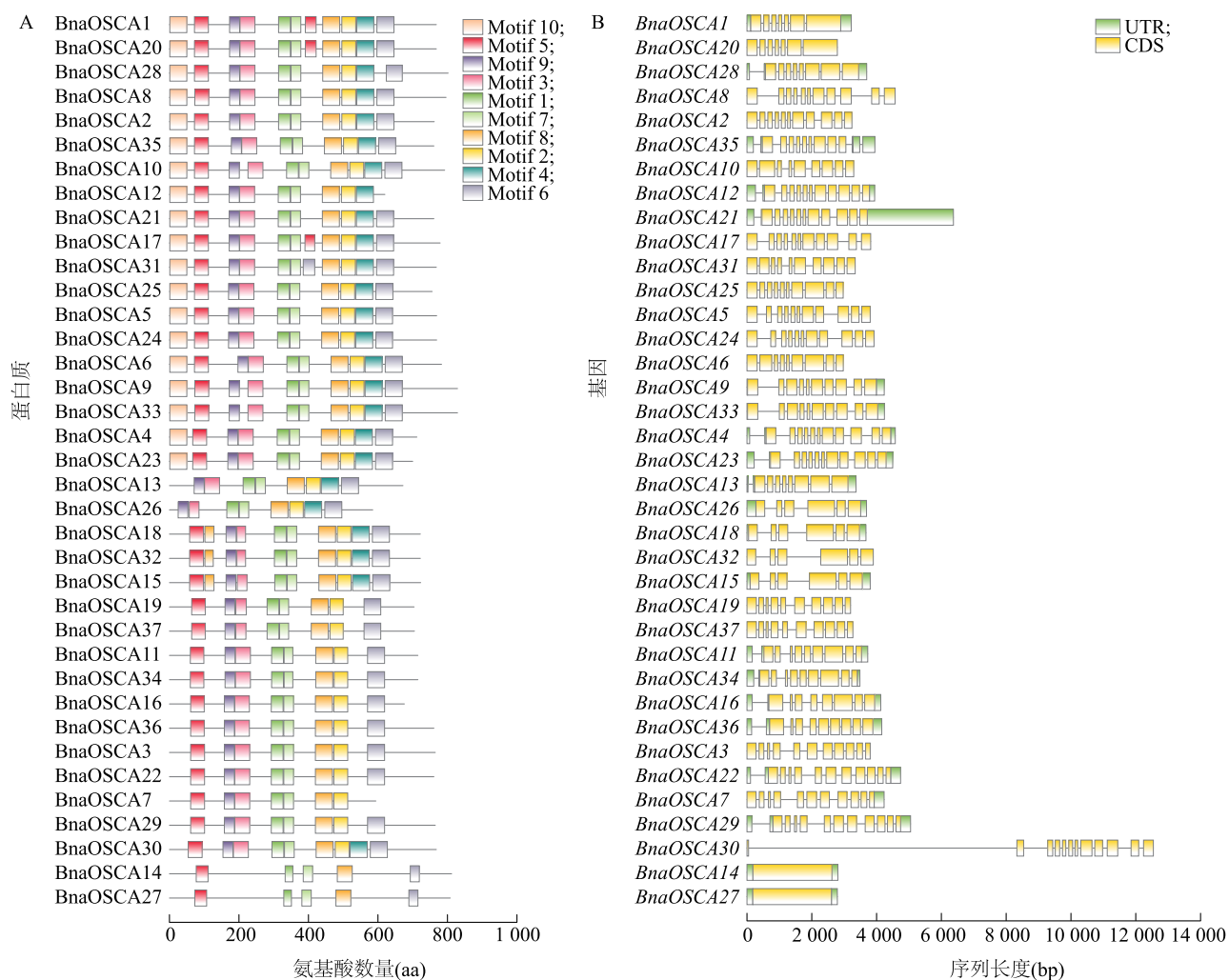
2.3 基因结构及保守基序

分析甘蓝型油菜 *OSCA* 家族成员及编码蛋白质结构。如图 3 所示, *BnaOSCA* 家族成员具有复杂的基因结构, 而亲缘关系较近的 *BnaOSCA* 家族成员基因外显子的分布和数量相似。所有 *BnaOSCA* 家族成员均含有 Motif1、Motif7 和 Motif8 这 3 个保守基序。其中, *BnaOSCA14* 和 *BnaOSCA27* 分别含有 5 个 Motif, 而 *BnaOSCA7* 含有 7 个 Motif, 其余成员则含有 8~10 个 Motif。亲缘关系较近的 *BnaOSCA* 家族成员保守基序的分布也具有相似性。

2.4 顺式作用元件

采用 PlantCARE 工具对 *OSCA* 家族成员启动子中的顺式作用元件进行分析。如图 4 所示, 启

动子区域包含多种激素响应元件, 包括赤霉素响应元件 (GARE-motif、P-box)、脱落酸响应元件 (ABRE)、茉莉酸甲酯响应元件 (TGACG-motif/CGTCA-motif)。有 34 个 *OSCA* 家族成员的启动子区域含有 GARE-motif 响应元件, 32 个 *OSCA* 家族成员的启动子含有 ABRE 响应元件, 32 个 *OSCA* 家族成员含有 P-box 响应元件, 21 个 *OSCA* 家族成员含有 TGACG-motif/CGTCA-motif 响应元件。此外, 在启动子区域还鉴定出与非生物胁迫响应元件, 包括干旱诱导的 MYB 结合位点、低温响应元件、厌氧诱导调节元件、应激反应相关元件。表明 *BnaOSCA* 家族的成员可能参与非生物胁迫响应和激素调控。



A: 保守基序; B: 基因结构。

图3 甘蓝型油菜 *OSCA* 家族成员基因结构及保守基序

Fig.3 Gene structure and conserved motifs of *OSCA* family members in *Brassica napus*

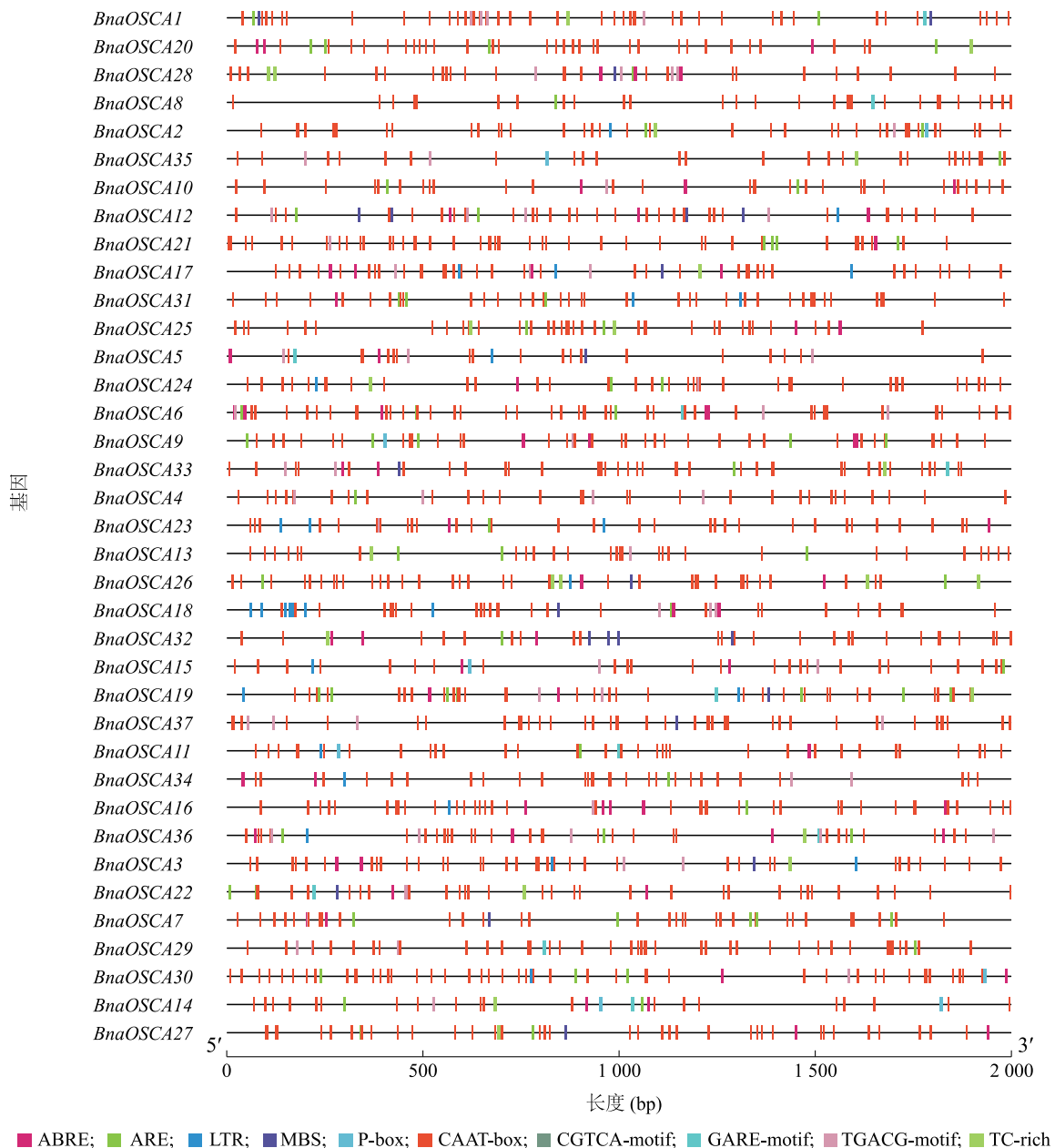
2.5 蛋白质二级结构和三维结构预测

如表3所示,37个 *BnaOSCA* 家族成员蛋白质的二级结构都由 α -螺旋(47.65%~59.83%)、 β -折叠(1.24%~4.46%)、延伸链(9.99%~15.57%)和无规则卷曲(27.18%~38.10%)构成。其中, α -螺旋和无规则卷曲占比较高。如图5所示,*BnaOSCA* 家族成员的空间构象以 α -螺旋和无规则卷曲为主,同时含有少量的延伸链和 β -折叠。

2.6 共线性分析

如图6所示,对甘蓝型油菜 *OSCA* 基因进行共线性分析,共鉴定出60对共线性基因对。除 A02、A04、A10、C02 和 C07 这5条染色体外,其余14条染色体上均存在片段重复序列,这些重复序列可能与基因家

族的演化有关,表明基因重复是甘蓝型油菜 *OSCA* 基因扩增和演化的重要机制。为了解析 *OSCA* 家族基因的演化历程,本研究对甘蓝型油菜、白菜、甘蓝和拟南芥4种植物 *OSCA* 家族基因进行共线性分析。如图7所示,拟南芥与甘蓝型油菜之间存在51对共线性 *OSCA* 基因,甘蓝型油菜与白菜之间存在29对共线性 *OSCA* 基因,甘蓝型油菜与甘蓝之间存在25对共线性 *OSCA* 基因。进一步分析发现,甘蓝型油菜、白菜和甘蓝中分别含有25个、16个和16个与拟南芥 *OSCA* 基因同源的基因。值得注意的是,在甘蓝型油菜、白菜和甘蓝中均未发现与拟南芥 *AT3G01100.1* 基因同源的基因,该基因可能在进化过程中丢失,其功能可能已被其他基因代偿^[22-23]。



ARE: 厌氧诱导元件; CCAAT-box: CCAAT 框; CGTCA-motif: 茉莉酸甲酯响应元件; GARE-motif: 赤霉素响应元件; MBS: 参与干旱诱导的 MYB 结合位点; TC-rich repeats: 参与防御胁迫反应的顺势作用元件; TGACG-motif: 茉莉酸甲酯响应元件; ABRE: 脱落酸响应元件; LTR: 低温响应元件; P-box: 赤霉素响应元件。

图 4 甘蓝型油菜 *OSCA* 家族成员启动子区域顺式作用元件

Fig. 4 Cis-regulatory elements in the promoter regions of *OSCA* family members in *Brassica napus*

此外,甘蓝型油菜和白菜之间存在 62 对共线性 *OSCA* 基因,其中,17 个甘蓝型油菜 *OSCA* 基因在白菜中存在对应的同源基因。在甘蓝型油菜与甘蓝之间存在 62 对共线性 *OSCA* 基因。其中,17 个甘蓝型油菜 *OSCA* 基因在甘蓝中存在对应的同源基因。这

些结果表明,在白菜和甘蓝杂交形成甘蓝型油菜的过程中,伴随着基因丢失的事件。此外,尽管甘蓝型油菜基因组中存在 *OSCA* 基因丢失现象,但 *OSCA* 家族却发生了扩张,表明基因复制在物种进化过程中发挥了重要作用。

表 3 甘蓝型油菜 OSCA 家族成员蛋白质二级结构

Table 3 Secondary structure of OSCA family proteins in *Brassica napus*

蛋白质	α -螺旋		延伸链		β -折叠		无规则卷曲	
	数量(个)	占比(%)	数量(个)	占比(%)	数量(个)	占比(%)	数量(个)	占比(%)
BnaOSCA1	389	50.65	112	14.58	19	2.47	248	32.29
BnaOSCA2	404	53.02	98	12.86	14	1.84	246	32.28
BnaOSCA3	384	52.00	93	12.16	20	2.61	268	35.03
BnaOSCA4	373	52.39	108	15.17	13	1.83	218	30.62
BnaOSCA5	395	51.37	87	11.31	17	2.21	270	35.11
BnaOSCA6	378	48.28	95	12.13	18	2.30	292	37.29
BnaOSCA7	322	54.21	80	13.47	12	2.02	180	30.30
BnaOSCA8	424	53.27	96	12.06	17	2.14	259	32.54
BnaOSCA9	395	47.65	114	13.75	21	2.53	299	36.07
BnaOSCA10	394	49.75	115	14.52	17	2.15	266	33.59
BnaOSCA11	379	53.01	101	14.13	14	1.96	221	30.96
BnaOSCA12	331	53.39	86	13.87	10	1.61	193	31.13
BnaOSCA13	361	53.72	88	13.10	9	1.34	214	31.85
BnaOSCA14	403	49.63	97	11.95	27	3.33	285	35.10
BnaOSCA15	407	56.29	77	10.65	9	1.24	230	31.81
BnaOSCA16	354	52.37	85	12.57	23	3.40	214	31.66
BnaOSCA17	378	48.52	115	14.76	25	3.21	261	33.50
BnaOSCA18	404	55.96	82	11.36	9	1.25	227	31.44
BnaOSCA19	380	53.98	93	13.21	12	1.70	219	31.11
BnaOSCA20	387	50.39	110	14.32	12	1.56	259	33.72
BnaOSCA21	402	52.83	76	9.99	17	2.23	266	34.95
BnaOSCA22	371	48.75	102	13.40	26	3.42	262	34.43
BnaOSCA23	352	50.29	109	15.57	15	2.14	224	32.00
BnaOSCA24	377	49.02	86	11.18	13	1.69	293	38.10
BnaOSCA25	381	50.40	103	13.62	13	1.72	259	34.26
BnaOSCA26	350	59.83	65	11.11	11	1.88	159	27.18
BnaOSCA27	413	51.11	93	11.51	36	4.46	266	32.92
BnaOSCA28	400	49.88	110	13.72	15	1.87	277	34.54
BnaOSCA29	379	49.54	93	12.16	29	3.79	264	34.51
BnaOSCA30	377	49.09	116	15.10	19	2.47	256	33.33
BnaOSCA31	398	51.82	101	13.15	14	1.82	255	33.20
BnaOSCA32	400	55.40	85	11.77	9	1.25	228	31.58
BnaOSCA33	401	48.37	115	13.87	25	3.02	288	34.74
BnaOSCA34	365	51.05	98	13.71	21	2.94	231	32.31
BnaOSCA35	390	51.25	105	13.80	18	2.37	248	32.59
BnaOSCA36	381	50.07	93	12.22	20	2.63	267	35.09
BnaOSCA37	387	54.89	71	10.07	10	1.42	237	33.62

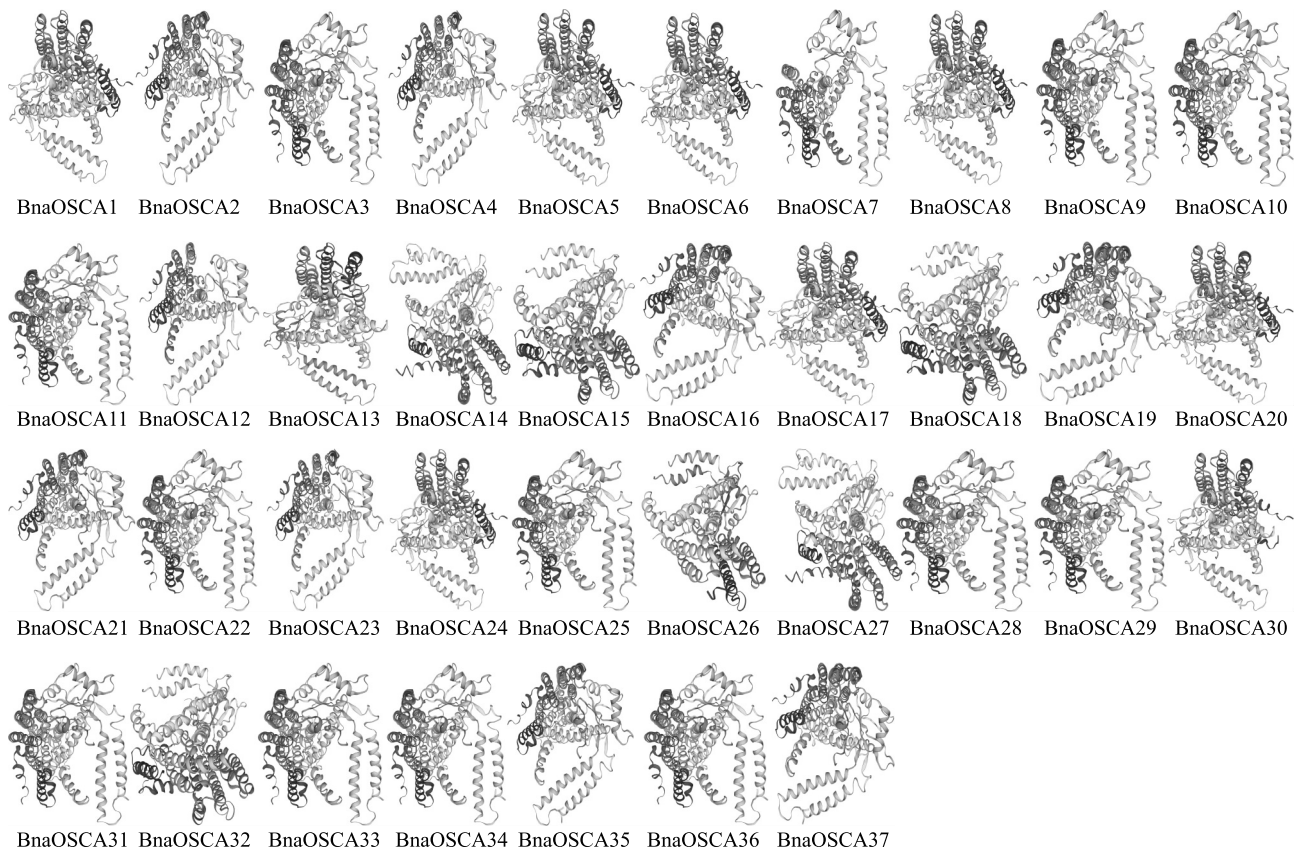


图 5 甘蓝型油菜 OSCA 家族成员蛋白质三级结构

Fig.5 Tertiary structure of OSCA family proteins in *Brassica napus*

2.7 *BnaOSCA* 基因在不同组织中的表达模式

从 BnTIR 平台下载中双 11 号甘蓝型油菜在不同组织中的转录组数据。如图 8 所示, *BnaOSCA26*、*BnaOSCA31*、*BnaOSCA33* 和 *BnaOSCA36* 在叶和角果中的相对表达量较高, *BnaOSCA8* 和 *BnaOSCA30* 在根、叶、子叶、芽、萼片、花瓣、花粉、长角果、种子中均不表达, 而大部分 *BnaOSCA* 基因只在某些组织中的相对表达量较高, 表现为组织特异性表达。

2.8 非生物胁迫下 *BnaOSCA* 基因的表达

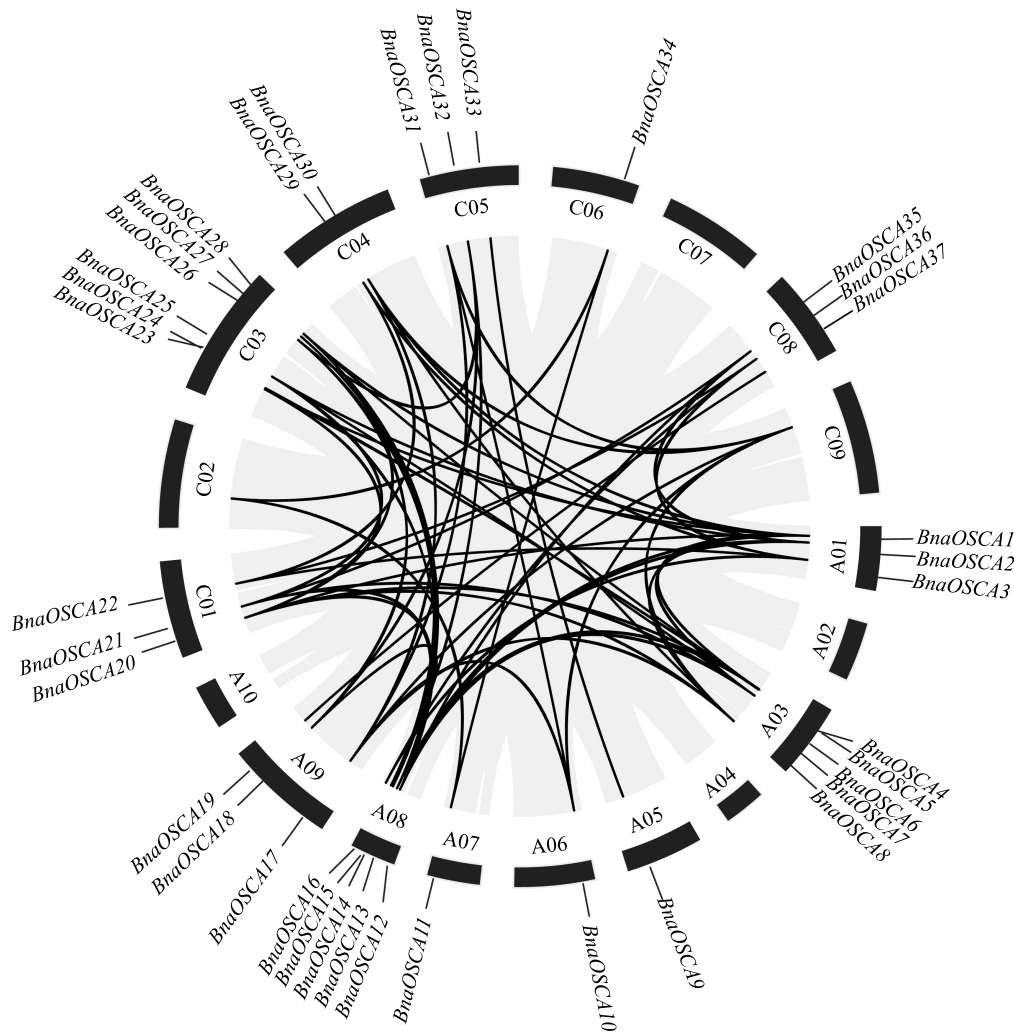
基于 *BnaOSCA* 家族基因在不同组织中的相对表达量, 筛选出在叶中相对表达量较高的 6 个 *BnaOSCA* 基因, 进一步分析其在盐胁迫、干旱胁迫下甘蓝型油菜叶中的相对表达量。如图 9 所示, *BnaOSCA4*、*BnaOSCA23* 和 *BnaOSCA26* 相对表达量呈先升高后降低的趋势, 在盐胁迫 2 h, *BnaOSCA4*、*BnaOSCA23* 和 *BnaOSCA26* 相对表达量达到最大。在盐胁迫 1 h, *BnaOSCA15*、*BnaOSCA31* 和 *BnaOSCA36* 相对表达量达到最大。如图 10 所示, 干旱胁迫 1 h, *BnaOSCA15*、

BnaOSCA23 和 *BnaOSCA36* 相对表达量达到最大。干旱胁迫 12 h, *BnaOSCA4* 相对表达量达到最高; 干旱胁迫 4 h, *BnaOSCA26* 相对表达量达到最大。

3 讨论与结论

植物在生长发育过程中常面临干旱、低温、盐碱胁迫以及病原体侵染等多种逆境胁迫^[24]。在长期进化过程中, 植物形成了快速感知和应对逆境的耐受和规避机制^[1]。OSCA (钙通透性阳离子通道蛋白) 在钙信号传导中起关键作用。目前, 已在拟南芥、大豆、大麦和茄属植物中分别鉴定出 15 个、21 个、14 个和 11 个 OSCA 家族成员, 这些成员均具有 DUF221 结构域。本研究从甘蓝型油菜基因组中鉴定出 37 个 OSCA 家族基因, 这些基因编码的蛋白质具有高度保守的氨基酸序列特征, 且大多数含有与植物逆境胁迫响应相关的 DUF221 结构域。

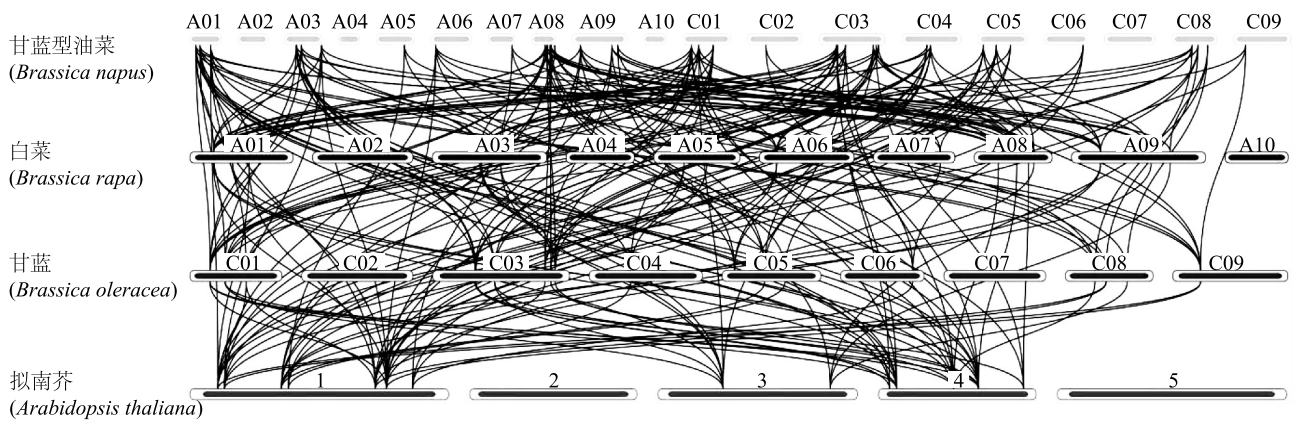
通过系统进化分析, *BnaOSCA* 家族基因可以被划分为 3 个亚族。这 37 个 *BnaOSCA* 基因在 13 条



A 基因组来自芸薹属的白菜 (*Brassica rapa*) ;C 基因组来自芸薹属的甘蓝 (*Brassica oleracea*)。

图 6 甘蓝型油菜 *OSCA* 基因共线性分析

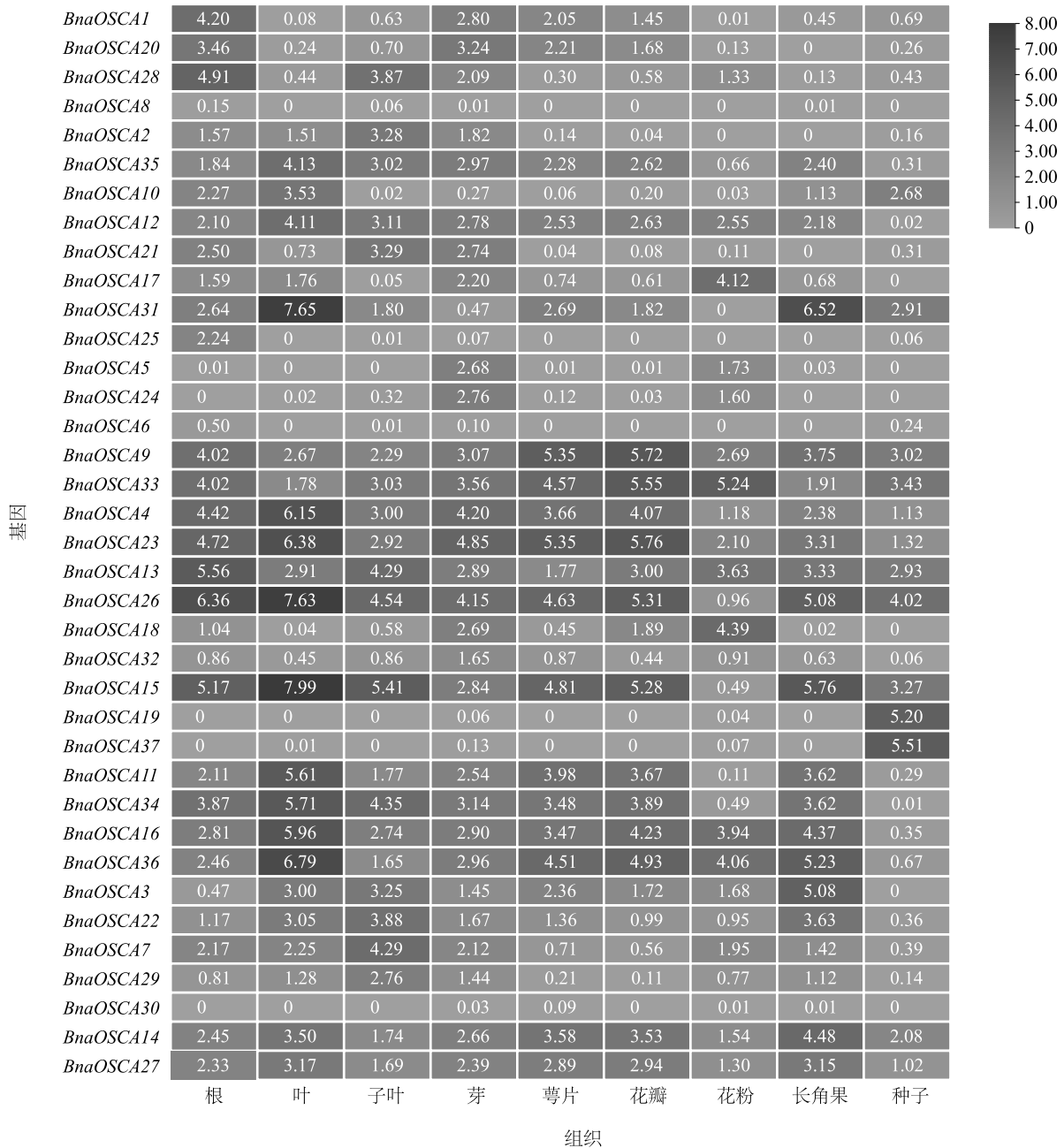
Fig.6 Collinearity analysis of *OSCA* genes in *Brassica napus*



A 基因组来自芸薹属的白菜 (*Brassica rapa*) ;C 基因组来自芸薹属的甘蓝 (*Brassica oleracea*)。

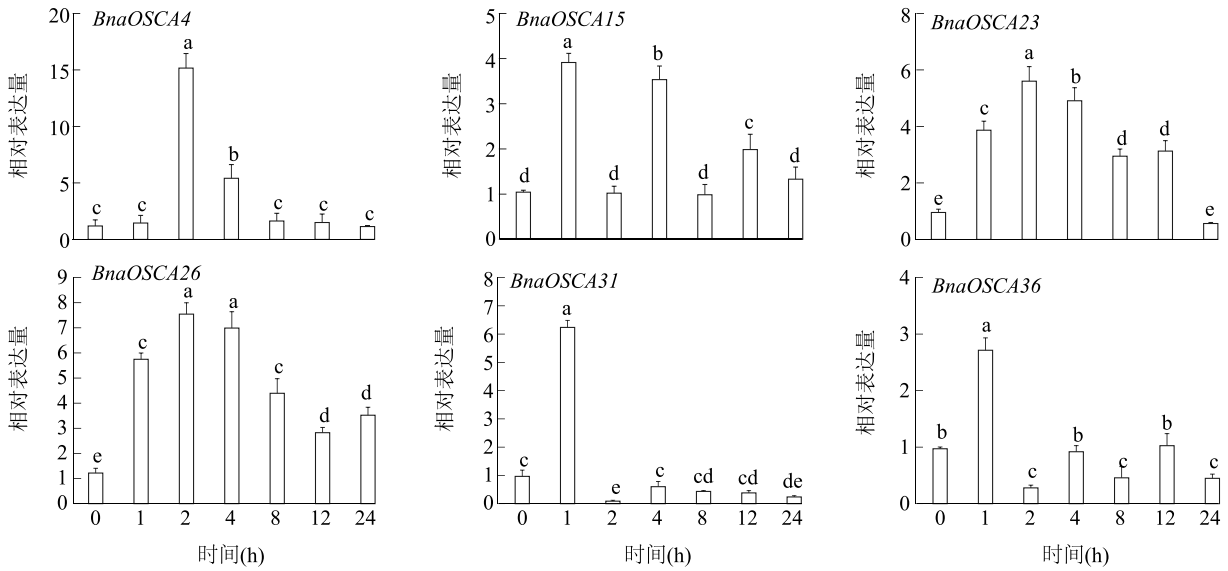
图 7 甘蓝型油菜、拟南芥、甘蓝和白菜 *OSCA* 基因共线性分析

Fig.7 Collinearity analysis of *OSCA* genes in *Brassica napus*, *Arabidopsis thaliana*, *Brassica oleracea*, and *Brassica rapa*

图 8 *BnaOSCA* 基因在不同组织中的表达模式Fig.8 Expression patterns of *BnaOSCA* genes in different tissues

染色体上不均匀分布,其中,A基因组包含19个*BnaOSCA*基因,而C基因组则包含18个*BnaOSCA*基因。本研究还鉴定了甘蓝型油菜的二倍体祖先物种——白菜和甘蓝的基因组,分别鉴定出19个和17个*OSCA*家族成员。共线性分析结果表明,甘蓝型油菜*OSCA*家族基因在进化过程中存在基因丢失现象,同时也发生了基因扩张。*BnaOSCA*家族表现出进化保守性、结构稳定性和功能连续性^[25]。

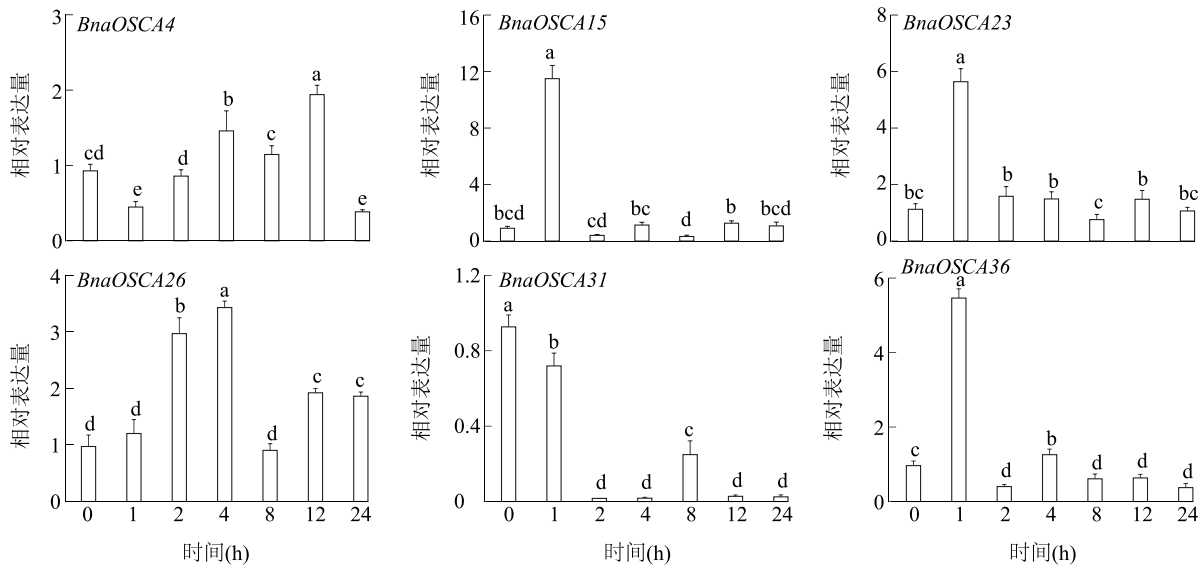
研究表明,*OSCA*基因在植物逆境胁迫中发挥重要作用^[26]。在盐胁迫下,玉米*ZmOSCA2.3*、*ZmOSCA2.4*表达量可提高200倍,且与脯氨酸含量呈显著正相关。在干旱胁迫下,拟南芥中*ZmOSCA2.4*的表达量上升^[26]。水稻*OsOSCA1.2*和*OsOSCA2.2*在调节细胞对外界渗透压变化的响应过程中,受到昼夜节律的影响,*OsOSCA*基因还响应干旱胁迫、盐胁迫^[27-28]。综上,*OSCA*家族基因在



图柱上不同小写字母表示不同时间基因的相对表达量差异显著 ($P < 0.05$)。

图9 盐胁迫下 *BnaOSCA* 基因的表达模式

Fig.9 Expression patterns of *BnaOSCA* genes under salt stress



图柱上不同小写字母表示不同时间基因的相对表达量差异显著 ($P < 0.05$)。

图10 干旱胁迫下 *BnaOSCA* 基因的表达模式

Fig.10 Expression patterns of *BnaOSCA* genes under drought stress

响应植物的非生物胁迫中具有重要的作用。

本研究发现,甘蓝型油菜 *BnaOSCA* 家族基因中含有大量的逆境响应元件,这些元件可能通过不同激素信号通路调控油菜生长发育和逆境响应。本研究对部分 *OSCA* 家族基因在盐胁迫、干旱胁迫下的相对表达量进行分析。结果表明, *BnaOSCA4*、*BnaOSCA23* 和 *BnaOSCA26* 相对表达量呈先升高后降低的趋势,在盐

胁迫 2 h, *BnaOSCA4*、*BnaOSCA23* 和 *BnaOSCA26* 相对表达量达到最大。在盐胁迫 1 h, *BnaOSCA15*、*BnaOSCA31* 和 *BnaOSCA36* 相对表达量达到最大。干旱胁迫 1 h, *BnaOSCA15*、*BnaOSCA23* 和 *BnaOSCA36* 相对表达量达到最大。干旱胁迫 12 h, *BnaOSCA4* 相对表达量达到最大;干旱胁迫 4 h, *BnaOSCA26* 相对表达量达到最大。表明 *BnaOSCA* 家族基因在甘蓝型油菜响应盐胁迫和

干旱胁迫过程中发挥重要作用。本研究结果为进一步完善 *BnaOSCA* 家族基因调控网络提供了理论依据。

参考文献:

- [1] BATISTIC O, KUDLA J. Analysis of calcium signaling pathways in plants[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2012, 1820(8):1283-1293.
- [2] TONG K, WU X Y, HE L, et al. Genome-wide identification and expression profile of *OSCA* gene family members in *Triticum aestivum* L.[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 23(1):469.
- [3] EDEL K H, KUDLA J. Increasing complexity and versatility: how the calcium signaling toolkit was shaped during plant land colonization[J]. *Cell Calcium*, 2015, 57(3):231-246.
- [4] YUAN F, YANG H, XUE Y, et al. *OSCA1* mediates osmotic-stress-evoked Ca^{2+} increases vital for osmosensing in *Arabidopsis* [J]. *Nature*, 2014, 514(7522):367-371.
- [5] HOU C, TIAN W, KLEIST T, et al. DUF221 proteins are a family of osmosensitive calcium-permeable cation channels conserved across eukaryotes[J]. *Cell Research*, 2014, 24(5):632-635.
- [6] YIN L, ZHANG M L, WU R G, et al. Genome-wide analysis of *OSCA* gene family members in *Vigna radiata* and their involvement in the osmotic response[J]. *BMC Plant Biology*, 2021, 21(1):408.
- [7] LI Y S, YUAN F, WEN Z H, et al. Genome-wide survey and expression analysis of the *OSCA* gene family in rice[J]. *BMC Plant Biology*, 2015, 15:261.
- [8] CAI Q, WANG Y X, NI S F, et al. Genomewide identification and analysis of the *OSCA* gene family in barley (*Hordeum vulgare* L.) [J]. *Journal of Genetics*, 2022, 101:34.
- [9] MIAO S, LI F S, HAN Y, et al. Identification of *OSCA* gene family in *Solanum habrochaites* and its function analysis under stress [J]. *BMC Genomics*, 2022, 23(1):547.
- [10] 王傲雪,张可为,张 瑶,等. 番茄 *OSCA* 基因家族鉴定及不同胁迫条件下表达分析[J]. *东北农业大学学报*, 2019, 50(1):19-28.
- [11] 李嘉琪,罗石磊,张帅磊,等. 辣椒 *OSCA* 基因家族的全基因组鉴定及不同胁迫条件下表达分析[J]. *植物科学学报*, 2022, 40(2):187-196.
- [12] SONG J M, GUAN Z L, HU J L, et al. Eight high-quality genomes reveal pan-genome architecture and ecotype differentiation of *Brassica napus* [J]. *Nature Plants*, 2020, 6(1):34-45.
- [13] WEI C, ZHAO W Q, FAN R Q, et al. Genome-wide survey of the F-box/Kelch (FBK) members and molecular identification of a novel *FBK* gene *TaAFR* in wheat [J]. *PLoS One*, 2021, 16(7):e0250479.
- [14] SWARBRECK D, WILKS C, LAMESCH P, et al. The *Arabidopsis* information resource (TAIR): gene structure and function annotation[J]. *Nucleic Acids Research*, 2008, 36:1009-1014.
- [15] GASTEIGER E, GATTIKER A, HOOGLAND C, et al. ExPASy: the proteomics server for in-depth protein knowledge and analysis [J]. *Nucleic Acids Research*, 2003, 31(13):3784-3788.
- [16] HORTON P, PARK K J, OBAYASHI T, et al. WoLF PSORT: protein localization predictor [J]. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35:585-587.
- [17] SAITOU N, NEI M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1987, 4(4):406-425.
- [18] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis Version 7.0 for bigger datasets [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7):1870-1874.
- [19] CHEN C J, CHEN H, ZHANG Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(8):1194-1202.
- [20] LESCOT M, DÉHAIS P, THIJS G, et al. PlantCARE, a database of plant *cis*-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences [J]. *Nucleic Acids Research*, 2002, 30(1):325-327.
- [21] LIU D X, YU L Q, WEI L L, et al. BnTIR: an online transcriptome platform for exploring RNA-seq libraries for oil crop *Brassica napus* [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(10):1895-1897.
- [22] LYNCH M, CONERY J S. The evolutionary fate and consequences of duplicate genes [J]. *Science*, 2000, 290(5494):1151-1155.
- [23] CHALHOUB B, DENOEUDE F, LIU S, et al. Plant genetics. Early allopolyploid evolution in the post-Neolithic *Brassica napus* oilseed genome [J]. *Science*, 2014, 345(6199):950-953.
- [24] GUO M, LIU J H, LU J P, et al. Genome-wide analysis of the *CaHsp20* gene family in pepper: comprehensive sequence and expression profile analysis under heat stress [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6:806.
- [25] ALBRECHT C, RUSSINOVA E, KEMMERLING B, et al. *Arabidopsis* somatic embryogenesis receptor kinase proteins serve brassinosteroid-dependent and -independent signaling pathways [J]. *Physiologia Plantarum*, 2008, 148(1):611-619.
- [26] CAO L R, ZHANG P Y, LU X M, et al. Systematic analysis of the maize *OSCA* genes revealing *ZmOSCA* family members involved in osmotic stress and *ZmOSCA2.4* confers enhanced drought tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(1):351.
- [27] FUJITA Y, YOSHIDA T, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. Pivotal role of the *AREB/ABF-SnRK2* pathway in ABRE-mediated transcription in response to osmotic stress in plants [J]. *Physiologia Plantarum*, 2013, 147(1):15-27.
- [28] ZHAI Y J, WEN Z H, FANG W Q, et al. Functional analysis of rice *OSCA* genes overexpressed in the *Arabidopsis* *osca1* mutant due to drought and salt stresses [J]. *Transgenic Research*, 2021, 30(6):811-820.

(责任编辑:成纾寒)