

田然旗, 成梦凯, 杨姣姣, 等. 大白菜 *MBF1* 家族基因鉴定及高温或低温胁迫下的表达分析[J]. 江苏农业学报, 2026, 42( 5 ): 1015-1026.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2026.05.015

# 大白菜 *MBF1* 家族基因鉴定及高温或低温胁迫下的表达分析

田然旗<sup>1</sup>, 成梦凯<sup>1</sup>, 杨姣姣<sup>1</sup>, 张鼎晨<sup>1</sup>, 毛学达<sup>1</sup>, 胡琳莉<sup>1,2</sup>

(1. 甘肃农业大学园艺学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 干旱生境作物学国家重点实验室, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 多蛋白桥梁因子(Multiprotein bridging factor 1, MBF1) 作为一类转录共激活因子, 在植物响应高温胁迫和低温胁迫过程中发挥重要作用。本研究在大白菜全基因组中系统鉴定 *MBF1* 家族基因, 并对其分子特征进行分析。通过生物信息学手段对该家族基因的结构、染色体定位、顺式作用元件、种内与种间共线性关系及编码蛋白质理化性质、亚细胞定位、蛋白质结构进行全面分析; 并基于转录组测序(RNA-Seq) 数据结合实时荧光定量逆转录PCR(qRT-PCR) 技术, 解析其在高温和低温胁迫下的表达模式。结果表明, 大白菜 *MBF1* 家族基因含有 6 个成员(分别命名为 *BrMBF1-01* ~ *BrMBF1-06*), 分布于 5 条染色体上, 其编码的蛋白质氨基酸数量介于 127 aa 至 458 aa, 相对分子量为 14 098.37 ~ 50 794.78, 等电点位于 9.25 ~ 10.16。从该家族基因启动子中鉴定出激素响应、胁迫响应、昼夜节律调控 3 大类顺式作用元件。大白菜 *MBF1* 家族基因编码的蛋白质二级结构均包含  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -转角、延伸链及无规则卷曲, 二级结构组成高度保守, 三级结构构象存在明显多样性。3 对大白菜 *MBF1* 基因存在片段重复, 同时大白菜 *MBF1* 基因与拟南芥 *MBF1* 基因之间存在种间共线性关系。低温胁迫下, 大白菜 *BrMBF1-02*、*BrMBF1-03* 基因相对表达量下调, 其余 4 个 *MBF1* 基因相对表达量呈先下调后上调趋势; 高温胁迫下, 除 *BrMBF1-06* 基因和 *BrMBF1-02* 基因外, 另外 4 个 *MBF1* 基因响应迅速, 相对表达量显著上调。综上, 本研究结果既为大白菜 *MBF1* 基因的功能研究奠定了基础, 也为其抗高温和低温胁迫分子育种提供了基因资源。

**关键词:** 大白菜; *MBF1* 家族基因; 生物信息学分析; 基因表达分析; 高温或低温胁迫响应

**中图分类号:** S634.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2026)05-1015-12

## Identification of the *MBF1* family genes in Chinese cabbage and expression analysis under high- or low-temperature stress

TIAN Ranqi<sup>1</sup>, CHENG Mengkai<sup>1</sup>, YANG Jiaojiao<sup>1</sup>, ZHANG Dingchen<sup>1</sup>, MAO Xueda<sup>1</sup>, HU Linli<sup>1,2</sup>

(1. College of Horticulture, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 2. State Key Laboratory of Aridland Crop Science, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** Multiprotein bridging factor 1 (MBF1), as a class of transcriptional coactivators, plays an important role in plant responses to high- and low-temperature stress. In this study, the *MBF1* family genes were systematically identified from the whole genome of Chinese cabbage, and their molecular characteristics were analyzed. Using bioinformatics tools, the gene structures, chromosomal locations, *cis*-acting elements, intraspecific and interspecific collinearity of these family

genes, as well as the physicochemical properties, subcellular localization, and protein structures of the encoded proteins, were comprehensively analyzed. Furthermore, based on transcriptome sequencing (RNA-seq) data combined with quantitative real-time reverse transcription PCR (qRT-PCR), their expression patterns under high- and low-temperature stress were analyzed. The results showed that the Chinese cabbage *MBF1* family

收稿日期: 2026-01-25

基金项目: 甘肃农业大学大学生创新创业项目(202512010); 国家自然科学基金项目(32560727); 干旱生境作物学国家重点实验室主任基金项目(GSCS-2023-Z06)

作者简介: 田然旗(2004-), 男, 山东济宁人, 本科, 研究方向为作物逆境分子生物学。(E-mail) 13142207302@163.com

通讯作者: 胡琳莉, (E-mail) hull@gsau.edu.cn

genes contained six members (designated *BrMBF1-01* to *BrMBF1-06*, respectively), which were distributed on five chromosomes. The encoded proteins ranged from 127 aa to 458 aa in amino acid length, with relative molecular masses from 14 098.37 to 50 794.78, and their isoelectric points ranged from 9.25 to 10.16. The promoters of these family genes were found to contain three major categories of *cis*-acting elements: hormone-responsive, stress-responsive, and circadian rhythm regulatory elements. The secondary structures of the proteins encoded by the Chinese cabbage *MBF1* family genes all contained  $\alpha$ -helices,  $\beta$ -turns, extended strands, and random coils. The secondary structure composition was highly conserved, while the tertiary structure conformations exhibited significant diversity. Three pairs of *MBF1* genes in Chinese cabbage exhibited segmental duplications, and there was interspecific collinearity between Chinese cabbage *MBF1* genes and *Arabidopsis thaliana* *MBF1* genes. Under low-temperature stress, the relative expression levels of *BrMBF1-02* and *BrMBF1-03* genes in Chinese cabbage were downregulated, while the remaining four *MBF1* genes first decreased and then increased in their relative expression levels. Under high-temperature stress, except for the *BrMBF1-06* and *BrMBF1-02* genes, the other four *MBF1* genes responded rapidly and showed significantly upregulated relative expression levels. In summary, the results of this study lay a foundation for functional studies of *MBF1* genes in Chinese cabbage and also provide genetic resources for molecular breeding for resistance to high-temperature and low-temperature stresses.

**Key words:** Chinese cabbage; *MBF1* family genes; bioinformatics analysis; gene expression analysis; response to high or low temperature stress

大白菜 (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) 是 1~2 年生草本植物, 隶属于十字花科芸薹属, 起源于中国<sup>[1]</sup>, 年种植面积约  $8.0 \times 10^5$  hm<sup>2</sup>, 约占全国蔬菜种植面积的 15%<sup>[2]</sup>。然而, 在大白菜生长发育过程中, 高温、低温等非生物胁迫常对其造成不利影响<sup>[3]</sup>, 严重制约种植效益与生产水平。因此, 挖掘并鉴定抗逆相关基因, 对于选育综合抗性强、高产优质的大白菜新品种具有重要的理论与实践意义。多蛋白桥梁因子 (Multiprotein bridging factor 1, MBF1) 家族是一个转录共激活因子家族, 在进化上高度保守<sup>[4]</sup>, 属于螺旋-转角-螺旋 (HTH) 超家族, 广泛分布在动物、植物和微生物中<sup>[5-6]</sup>。MBF1 蛋白首次于家蚕 (*Bombyx mori*) 中被发现<sup>[7]</sup>, 并被鉴定为一类非 DNA 结合型转录辅因子, 其分子功能是在转录因子与基础转录机制之间发挥桥梁作用。后续研究结果表明, 编码该蛋白质的同源基因广泛存在于所有真核生物中。MBF1 蛋白结构域包括 N 端 MBF1 结构域和 C 端 HTH 结构域, 其中 HTH 结构域对于维持 MBF1 的功能活性至关重要<sup>[8]</sup>。长期以来, 前人对 *MBF1* 家族基因的研究结果表明, 其在生物生长发育及逆境胁迫应答过程中发挥多样化功能。在生长发育方面, *MBF1* 基因可参与调控开花、产量形成及种子萌发等过程, 且呈现出广泛而差异化的表达模式<sup>[9]</sup>。在生物逆境应答中, MBF1 蛋白可参与植物抗病免疫反应, 在转基因番茄中对灰霉病抗性表现为负调控作用<sup>[10]</sup>。在非生物胁迫应答方面, MBF1

蛋白可增强植物对高温、低温、盐、干旱、渗透及重金属离子等多种非生物胁迫的耐受性<sup>[11-13]</sup>。例如, 任乾丹等<sup>[5]</sup>研究发现, 随着铅 (Pb) 离子浓度的增加, 除 *HrMBF1-2* 基因外, 其余 5 个沙棘 *MBF1* 家族基因的表达量总体呈先上升后下降再上升的趋势。Tian 等<sup>[14]</sup>研究发现, 在高温胁迫条件下, 与野生型小麦株系幼苗相比, *TaMBF1c* 基因过表达小麦株系幼苗的存活率显著提高。Saleh 等<sup>[15]</sup>的研究结果表明, *MBF1* 基因在 2 个葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 品种中的表达水平均受高温与干旱胁迫诱导上调表达。Hui 等<sup>[16]</sup>的研究结果表明, 在低温胁迫条件下, 花椒 *ZaMBF1a* 和 *ZaMBF1b* 基因的表达无显著变化, *ZaMBF1c* 基因在低温环境中显著下调表达, 且在低温胁迫 6 h 后表达受到显著抑制; 邹丽芳<sup>[17]</sup>的研究结果则表明, 低温胁迫 0.5 h 时, 芥蓝 *BocMBF1c* 基因表达量达到峰值, 随后缓慢下降, 8.0 h 时再次升高。*MBF1* 基因可能在大白菜应对高温或低温胁迫中发挥重要作用, 是抗逆育种的潜在靶点。然而, 目前大白菜 *MBF1* 基因家族成员及其对温度胁迫的响应机制尚未明确。为此, 本研究利用 Brapa\_v3.0 数据库对大白菜 *MBF1* 家族基因进行鉴定和分析, 并利用转录组和实时荧光定量逆转录 PCR (qRT-PCR) 技术, 研究高温及低温胁迫下 *MBF1* 基因家族成员的表达模式, 为 *BrMBF1* 基因的功能研究奠定基础, 进而为大白菜抗高温或低温胁迫分子育种提供基因资源。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 *MBF1* 家族基因的鉴定

本研究从 BRAD 数据库 (<http://www.brassicadb.cn/#/>) 下载大白菜 Brapa\_v3.0 版本基因组序列、蛋白质氨基酸序列及注释文件。从 Pfam 数据库 (<https://pfam.xfam.org/>) 下载 *MBF1* 家族基因对应的隐马尔可夫模型文件 (HMM profile, PF08523)。利用 HMMER 3.0 软件,以大白菜蛋白质氨基酸序列为搜索库,基于 *MBF1* 的 HMM 模型进行 hmmsearch 检索,筛选  $E < 0.01$  的碱基序列作为候选基因,并记录其基因 ID。随后通过 TBtools v2.210 软件的序列提取功能,依据候选基因 ID 从大白菜蛋白质氨基酸序列集中获取对应的氨基酸序列,并利用 ID Simplify 工具对基因名称进行简化,最终获得大白菜 *MBF1* 基因家族成员。

### 1.2 大白菜 *MBF1* 蛋白理化性质分析及其亚细胞定位

利用 TBtools v2.210 软件对 *MBF1* 家族蛋白进行理化性质分析。通过“蛋白参数计算”功能导入 *MBF1* 蛋白氨基酸序列 FASTA 文件,系统计算各成员的氨基酸数目、相对分子量、理论等电点、不稳定指数及总平均亲水性指数等参数。同时,借助在线工具 Plant-mPloc (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/>) 对大白菜 *MBF1* 家族蛋白进行亚细胞定位预测。

### 1.3 大白菜 *MBF1* 基因染色体定位及其编码的蛋白质系统发育分析

通过 TBtools v2.210 软件的“可视化基因位置”功能,结合大白菜全基因组 GFF 注释文件与 *MBF1* 家族基因 ID,完成该家族基因成员的染色体定位分析。从 Ensembl Plants 数据库 (<https://plants.ensembl.org/index.html>) 分别下载拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、番茄 (*Solanum lycopersicum*) 和水稻 (*Oryza sativa*) 的 *MBF1* 蛋白氨基酸序列。利用 MEGA 11 v7.0.26 软件对大白菜与上述 3 个物种的 *MBF1* 蛋白进行多序列比对,采用邻接法 (Neighbor-joining, NJ) 构建系统发育树,自展检验值 (Bootstrap) 设置为 1 000 次重复,并通过 iTOL 在线平台 (<https://itol.embl.de/itol.cgi>) 对发育树进行可视化。

### 1.4 大白菜 *MBF1* 基因启动子顺式作用元件的分析

利用 TBtools 软件提取各 *MBF1* 基因起始密码

子上游 2 000 bp 序列作为启动子序列;将所得序列提交至 PlantCARE 在线工具 (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 进行顺式作用元件的预测与分析。

### 1.5 大白菜 *MBF1* 家族基因结构及编码的蛋白质保守基序和结构域分析

利用 TBtools v2.210 软件的“可视化基因结构”功能,结合大白菜全基因组 GFF 注释文件与目标基因 ID,完成 *MBF1* 家族基因结构的可视化分析。通过 MEME 在线平台 (<https://meme-suite.org/>) 对大白菜 *MBF1* 蛋白氨基酸序列进行保守基序分析,设置保守基序最大数量为 10。同时利用 NCBI CDD 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/cdd.shtml>) 对 *MBF1* 蛋白的保守结构域进行预测。最后通过 TBtools v2.210 软件将系统发育树、基因结构、蛋白质保守结构域及保守基序整合为关联组合图。

### 1.6 大白菜 *MBF1* 蛋白二级、三级结构预测

运用在线网站 NPS ([https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa\\_automat.pl?page=/NPSA/npsa\\_sopma.html](https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html)) 将鉴定到的大白菜 *MBF1* 蛋白氨基酸序列分别进行提交,预测其二级结构;运用在线网站 SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>) 预测 *MBF1* 蛋白的三级结构。

### 1.7 大白菜 *MBF1* 家族基因组内、种间共线性分析

以拟南芥为模式植物,从 Phytozome 数据库 (<https://phytozome-next.jgi.doe.gov/>) 下载其基因组相关文件,提取大白菜与拟南芥的基因及基因组信息。利用 TBtools 软件的 Multiple Synteny Plot 工具进行大白菜 *MBF1* 家族基因的种内共线性分析;通过 Advanced Circos 功能完成大白菜 *MBF1* 家族基因与拟南芥 *MBF1* 家族基因种间共线性分析。

### 1.8 大白菜 *MBF1* 基因表达模式分析

本研究选用大白菜品种华耐娃娃菜的种子作为试验材料。温汤浸种后,将均匀饱满的种子播于铺有滤纸的培养皿中,在  $(25 \pm 1)$  °C 黑暗条件下催芽 48 h。种子露白后,播种至装有营养土 (体积比为草炭:蛭石 = 3:1) 的小花盆中进行培育。培养条件为:温度  $(25 \pm 1)$  °C/18 °C (昼/夜),光周期 14 h/10 h (昼/夜),光照度 200  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。待幼苗长至 4 叶 1 心时,移入 25 °C/18 °C (昼/夜,适宜温度)、38 °C/25 °C (昼/夜,高温) 与 4 °C/4 °C (昼/夜,低温) 的人工气候箱中,光周期设置为 16 h/8 h (昼/

夜),光照度为  $200 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。分别于处理 0 h、3 h、6 h、12 h、24 h 和 48 h 取植株叶片,置于液氮中迅速冷冻,随后存放于  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱中备用。

将低温处理 3 h、6 h,高温处理 3 h 以及适宜温度处理 3 h 的植株叶片样品送至北京百迈客生物科技有限公司进行转录组测序分析,测序结果利用 TBtools 软件绘制成表达量热图。

委托生工生物工程(上海)股份有限公司设计并合成目的基因特异性实时荧光定量(qPCR)扩增

引物(表 1)。以 *BrActin* 为内参基因,对各样品基因转录水平进行标准化校正。qPCR 反应总体积为  $20.0 \mu\text{L}$ ; cDNA 模板  $2.0 \mu\text{L}$ , 上、下游引物各  $0.6 \mu\text{L}$ ,  $2 \times \text{FastReal qPCR PreMix (SYBR Green)}$   $10.0 \mu\text{L}$ , 剩余体积以  $\text{ddH}_2\text{O}$  补足。扩增程序为:  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  预变性 2 min;  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  变性 5 s,  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  退火并延伸 15 s, 共 40 个循环; 熔解曲线分析采用仪器默认程序。每个样本设置 3 次生物学重复。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算并分析目的基因在不同温度处理下的相对表达水平。

表 1 本研究所用引物序列

Table 1 Primer sequences used in this study

基因	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
<i>BrMBF1-01</i>	CATGAGCGTGTGCCTACTGA	GTTGGGGATTGCTTTGCCAG
<i>BrMBF1-04</i>	GCCTTAGCGGTTTCAGACTGT	TTTACCCTATCCATCGCCG
<i>BrActin</i>	CCAGGAATCGCTGACCGTAT	CTGTTGGAAAGTGCTGAGGGA

## 2 结果与分析

### 2.1 大白菜 *MBF1* 家族基因鉴定及编码蛋白质理化性质和亚细胞定位

从表 2 可知,本研究共鉴定到 6 个大白菜 *MBF1* 基因家族成员,依次命名为 *BrMBF1-01* ~ *BrMBF1-06*。*MBF1* 基因编码的蛋白质氨基酸序列长度介于 127 aa 至 458 aa; 相对分子量介于 14 098.37~50 794.78,其中相对分子量最大的蛋白

质是 *BrMBF1-05*,最小的是 *BrMBF1-06*;等电点介于 9.25~10.16,均为碱性蛋白,*BrMBF1-05* 蛋白等电点最小,*BrMBF1-06* 蛋白等电点最大;不稳定指数为 33.00~48.52,除 *BrMBF1-04* 和 *BrMBF1-06* 2 个蛋白质外,其余蛋白质不稳定指数均小于 40.00,表明 *BrMBF1* 蛋白整体表现相对稳定;平均亲水性值皆为负值,表明大白菜 *MBF1* 家族蛋白均为亲水性蛋白;亚细胞定位预测发现,6 个大白菜 *MBF1* 蛋白均位于细胞核。

表 2 大白菜 *MBF1* 家族蛋白的理化性质

Table 2 Physicochemical properties of *MBF1* family proteins in Chinese cabbage

基因			蛋白质					
名称	编号	染色体定位	氨基酸序列长度(aa)	相对分子量	等电点	不稳定指数	平均亲水性值	亚细胞定位
<i>BrMBF1-01</i>	BraA03g022400.3C	3 号染色体	142	15 664.83	9.99	38.04	-0.875	细胞核
<i>BrMBF1-02</i>	BraA04g002640.3C	4 号染色体	142	15 609.91	9.90	36.88	-0.804	细胞核
<i>BrMBF1-03</i>	BraA05g003200.3C	5 号染色体	142	15 683.83	9.90	35.20	-0.889	细胞核
<i>BrMBF1-04</i>	BraA07g008580.3C	7 号染色体	148	16 425.16	9.99	45.62	-0.684	细胞核
<i>BrMBF1-05</i>	BraA07g023540.3C	7 号染色体	458	50 794.78	9.25	33.00	-0.467	细胞核
<i>BrMBF1-06</i>	BraA09g048910.3C	9 号染色体	127	14 098.37	10.16	48.52	-0.574	细胞核

等位点  $>7.00$  为碱性蛋白,等位点  $<7.00$  为酸性蛋白;不稳定指数  $\geq 40.00$  为不稳定蛋白,不稳定指数  $<40.00$  为稳定蛋白;平均亲水性值  $>0$  为疏水性蛋白;平均亲水性值  $<0$  为亲水性蛋白。

### 2.2 大白菜 *MBF1* 家族基因染色体定位及编码蛋白质系统发育树

从图 1 可见,大白菜 *MBF1* 家族基因 6 个成员分布于 5 条染色体上,其中 *BrMBF1-01*、*BrMBF1-02*、*BrMBF1-03* 基因分别分布于 3 号染色体、4 号染

色体、5 号染色体上,且都位于染色体的上臂。*BrMBF1-06* 基因位于 9 号染色体的下臂。*BrMBF1-04*、*BrMBF1-05* 基因分别位于 7 号染色体的上下臂。从大白菜、水稻、番茄、拟南芥 4 个物种 *MBF1* 家族蛋白(表 3)构建的系统发育树(图 2)可知,除水稻

OsMBF1-02 蛋白和大白菜 BrMBF1-05 蛋白外,4 个物种 MBF1 家族蛋白可以分为 A、B、C 3 个亚家族;大白菜 MBF1 家族蛋白可分为 3 个组,BrMBF1-01、BrMBF1-02、BrMBF1-03 及 BrMBF1-06 为一个组,

BrMBF1-04 和 BrMBF1-05 分别独立成组。值得注意的是,拟南芥 AtMBF1-03 蛋白与大白菜 BrMBF1-04 蛋白相似度达到 100%,表明其亲缘关系相近。

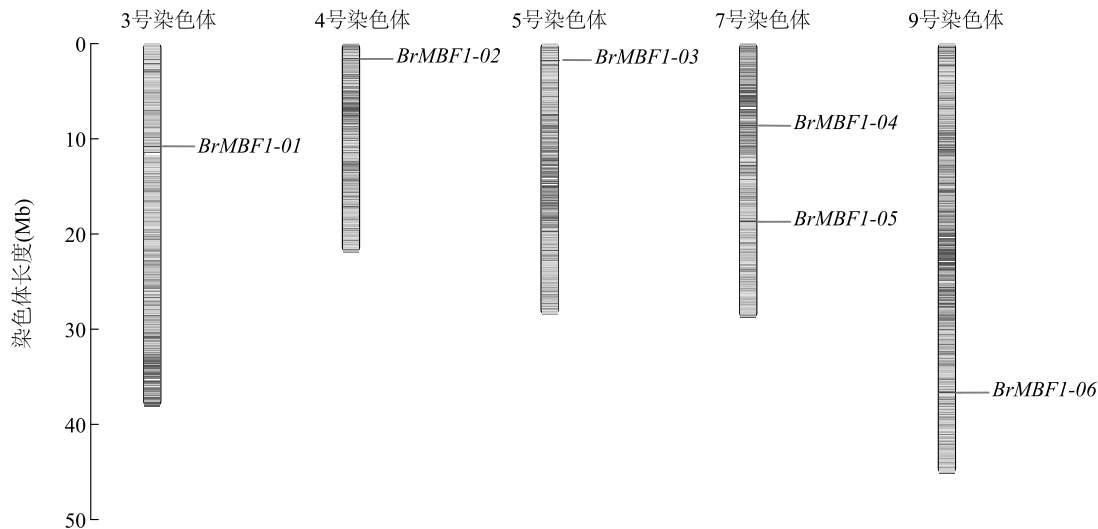


图1 大白菜 *MBF1* 家族基因染色体定位结果

Fig.1 Chromosomal distribution of *MBF1* family genes in Chinese cabbage

表3 大白菜、番茄、拟南芥、水稻 *MBF1* 基因家族成员信息

Table 3 Information of *MBF1* gene family members in Chinese cabbage, tomato, *Arabidopsis thaliana* and rice

物种	基因名称	基因编号	物种	基因名称	基因编号	物种	基因名称	基因编号
大白菜	<i>BrMBF1-01</i>	BraA03g022400.3C	水稻	<i>OsMBF1-01</i>	LOC_Os06g39240.1	番茄	<i>SIMBF1-05</i>	Solyc12g014290.2.1
	<i>BrMBF1-02</i>	BraA04g002640.3C		<i>OsMBF1-02</i>	LOC_Os08g27850.1	拟南芥	<i>AtMBF1-01</i>	AT2G42680.1
	<i>BrMBF1-03</i>	BraA05g003200.3C	番茄	<i>SIMBF1-01</i>	Solyc01g104740.3.1		<i>AtMBF1-02</i>	AT3G58680.1
	<i>BrMBF1-04</i>	BraA07g008580.3C		<i>SIMBF1-02</i>	Solyc01g104740.3.2		<i>AtMBF1-03</i>	AT3G24500.1
	<i>BrMBF1-05</i>	BraA07g023540.3C		<i>SIMBF1-03</i>	Solyc09g055470.1.1			
	<i>BrMBF1-06</i>	BraA09g048910.3C		<i>SIMBF1-04</i>	Solyc10g007350.4.1			

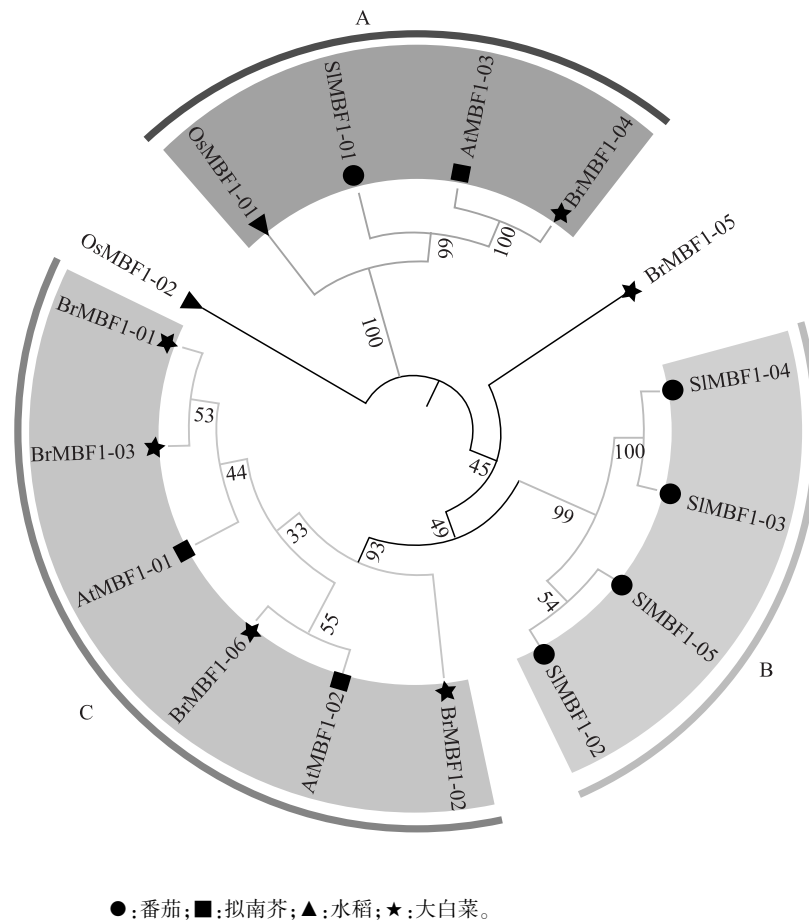
### 2.3 大白菜 *MBF1* 基因启动子顺式作用元件

基因启动子顺式作用元件在基因转录调控过程中发挥重要作用。大白菜 *MBF1* 基因启动子顺式作用元件如图3示,对其简化整理发现,可以分为3大类:激素响应相关元件、胁迫响应元件以及昼夜节律调控元件。激素响应元件有6种,胁迫响应元件有5种,昼夜节律调控元件为1种。其中,从 *BrMBF1-04* 基因中鉴定出的顺式作用元件数量最多,主要为茉莉酸甲酯响应调控元件(TGACC-motif)8个,脱落酸响应元件(ABRE)5个,干旱诱导 MYB 结合位点(MBS)3个,低温响应元件(LTR)3个;从 *BrMBF1-03* 中鉴定出的顺式作用元件数量最少,仅包括干旱诱导 MYB 结合位点(MBS)1个、厌氧诱导必需调控元件(ARE)

1个。据此推测,*MBF1* 家族基因极有可能参与大白菜的激素响应以及胁迫响应等生物学过程。

### 2.4 大白菜 *MBF1* 家族基因结构及编码蛋白结构

本研究对大白菜 *MBF1* 基因家族6个成员的基因结构进行了分析,结果(图4A)显示,大部分成员的基因结构较为保守:*BrMBF1-01*、*BrMBF1-02*、*BrMBF1-03* 和 *BrMBF1-06* 的基因序列长度为800~1200 bp,且外显子-内含子排列模式相似。相比之下,*BrMBF1-05* 的基因结构与其他基因差异显著,其序列长度明显大于其他基因,且外显子和内含子数量显著增多;而 *BrMBF1-04* 的基因序列长度最短,不足500 bp,仅包含1个外显子,无内含子结构。从图4B可见,大白菜 *MBF1* 家族蛋白中共鉴定出10



●: 番茄; ■: 拟南芥; ▲: 水稻; ★: 大白菜。

图 2 4 个物种 MBF1 家族蛋白进化树

Fig.2 Evolutionary tree of MBF1 family proteins from four species

个保守基序 (motif), 除 BrMBF1-05 蛋白外, 其余家族成员 motif 组成相似, 都包含 motif1、motif2、motif4。BrMBF1-02 蛋白特有 HTH 结构域, BrMBF1-05 蛋白特有核糖体 (Ribosomal) 结构域。

## 2.5 大白菜 MBF1 家族蛋白二级结构、三级结构预测

大白菜 MBF1 蛋白二级结构主要包括  $\alpha$  螺旋、 $\beta$  转角、延伸链及无规则卷曲, 6 个 BrMBF1 蛋白均包含这 4 种二级结构元件, 其中  $\alpha$ -螺旋和无规则卷曲为主要结构元件 (图 5A)。BrMBF1-01、BrMBF1-02、BrMBF1-03、BrMBF1-06 蛋白三级结构相似, 而 BrMBF1-04 和 BrMBF1-05 蛋白三级结构与其他蛋白质存在显著差异, 具有特异性 (图 5B)。综上, 大白菜 MBF1 家族蛋白的二级结构高度保守, 而三级结构构象存在明显多样性。

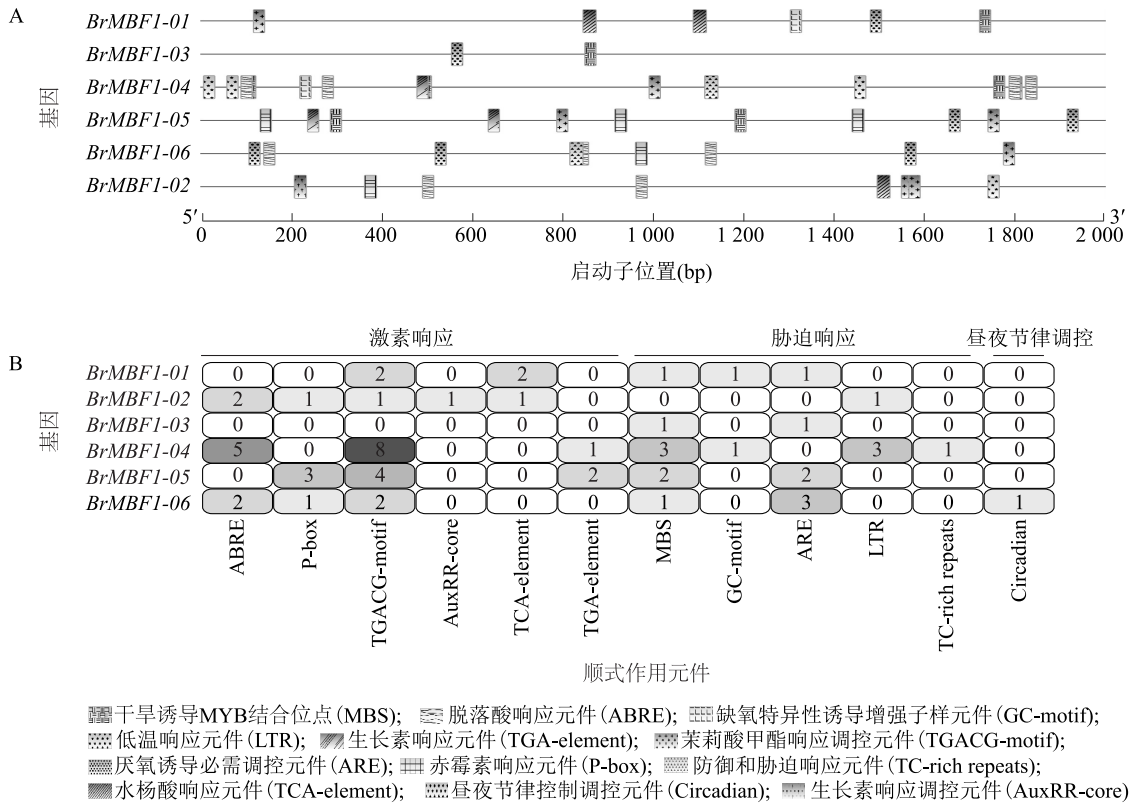
## 2.6 大白菜 MBF1 家族基因种内及种间共线性分析

从图 6A 可知, 在大白菜基因组中, 存在 3 个共线性基因对, 这 3 个基因对位于 3 号、4 号、7 号、9 号染

色体上。从图 6B 可知, 大白菜 5 条染色体上的 6 个基因分别与拟南芥 2 号、5 号染色体上的 3 个基因配对, 共存在 10 个共线性基因对。这表明, 双子叶植物内部进化可能具有一定的保守性, 大白菜 MBF1 基因与拟南芥 MBF1 基因的亲缘关系较近。

## 2.7 大白菜 MBF1 家族基因在高温和低温胁迫下的表达

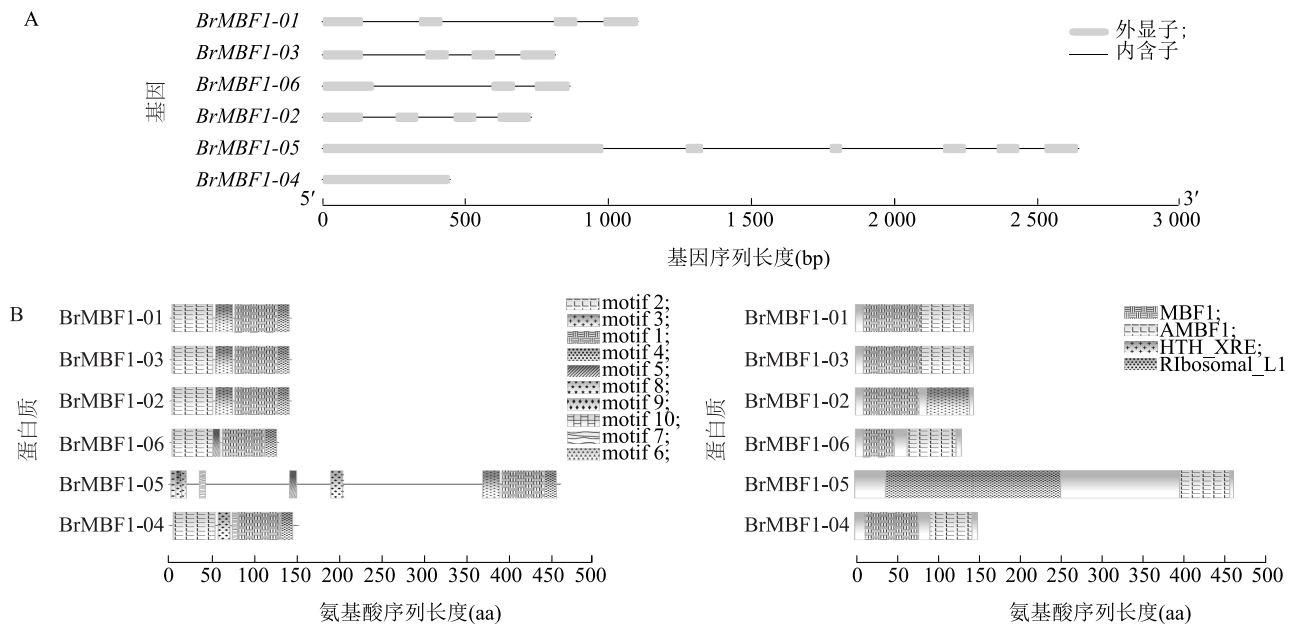
2.7.1 转录组测序 (RNA-Seq) 数据分析 从图 7 可知, 在高温和低温胁迫下, 大白菜 MBF1 家族基因有不同程度的响应。与常温处理相比, BrMBF1-01、BrMBF1-04、BrMBF1-05 和 BrMBF1-06 基因在低温胁迫处理 3~6 h 时相对表达量呈先下调后上调趋势, BrMBF1-02 和 BrMBF1-03 基因在低温胁迫后 3 h 和 6 h 相对表达量下降 (图 7A)。除 BrMBF1-02 基因外, BrMBF1-01~BrMBF1-05 基因在高温胁迫下相对表达量均显著上调, BrMBF1-06 基因表达量未被检测到, 推测其可能不响应高温胁迫 (图 7B)。



A: 启动子顺式作用元件可视化; B: 启动子顺式作用元件分布热图。

图3 大白菜 *MBF1* 家族基因启动子顺式作用元件分析结果

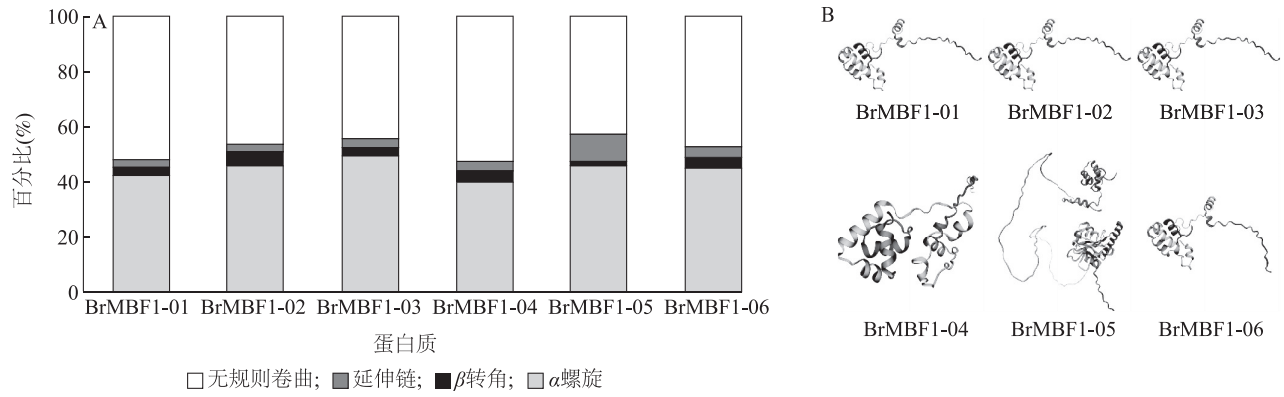
Fig.3 Analysis of *cis*-acting elements in the promoters of *MBF1* family genes in Chinese cabbage



A: *BrMBF1* 基因结构分析; B: *BrMBF1* 蛋白 motif 分析。

图4 大白菜 *BrMBF1* 基因结构与 *BrMBF1* 蛋白 motif 分析结果

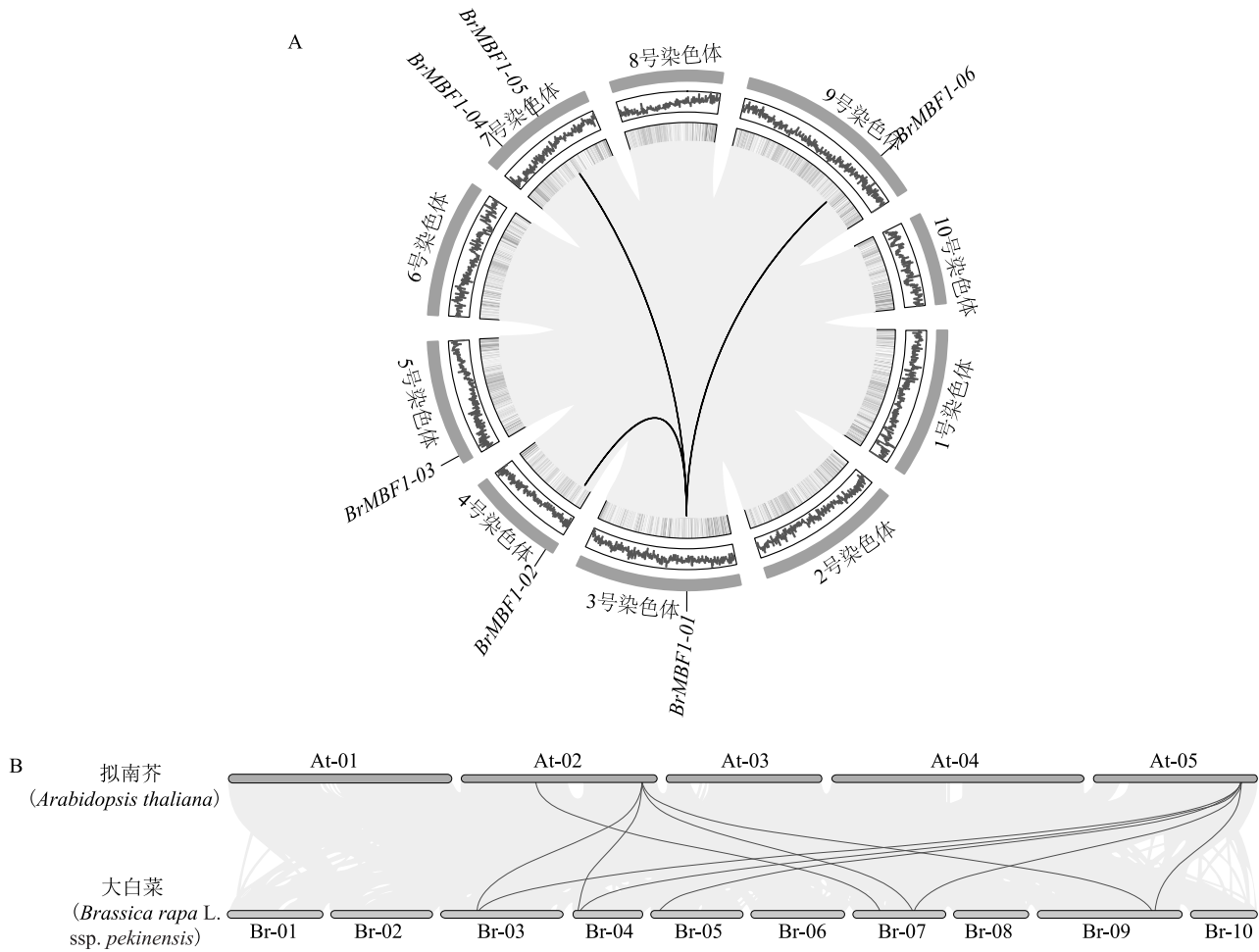
Fig.4 Analysis results of *BrMBF1* gene structure and *BrMBF1* protein motifs in Chinese cabbage



A: 大白菜 BrMBF1 蛋白二级结构预测; B: 大白菜 BrMBF1 蛋白三维结构预测。

图 5 大白菜 MBF1 蛋白结构预测结果

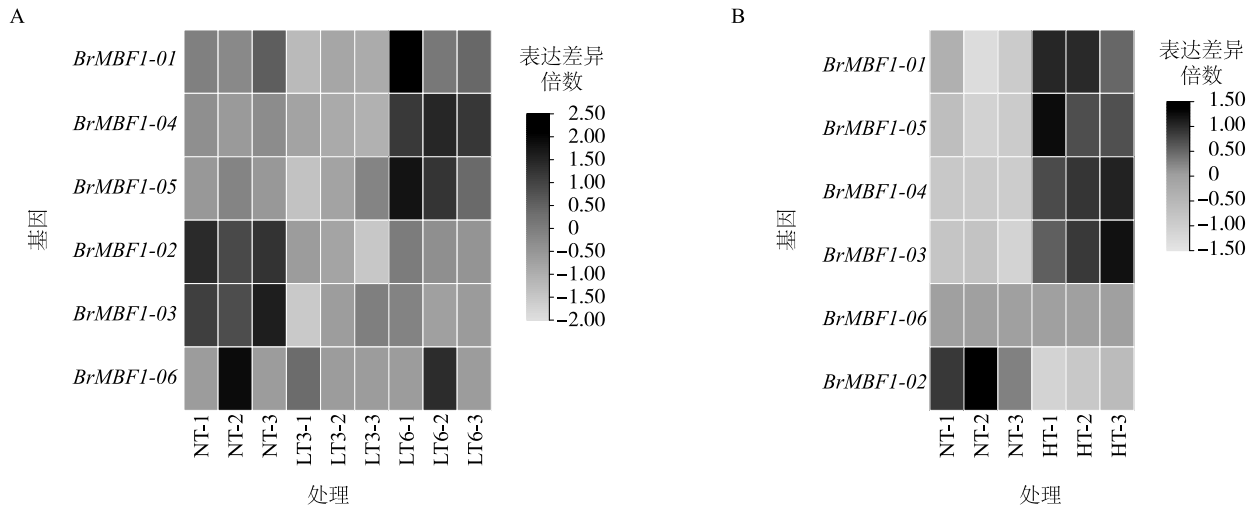
Fig.5 Structure prediction results of the MBF1 protein in Chinese cabbage



A: 大白菜 MBF1 家族基因种内共线性关系; B: 大白菜 MBF1 家族基因和拟南芥 MBF1 家族基因种间共线性关系。At-01 ~ At-05 为拟南芥染色体; Br-01 ~ Br-10 为大白菜染色体。

图 6 大白菜 MBF1 家族基因种内、种间共线性分析结果

Fig.6 Intraspecific and interspecific collinearity analysis of the MBF1 family genes in Chinese cabbage



A: 低温胁迫下 *BrMBF1* 基因表达量; B: 高温胁迫下 *BrMBF1* 基因表达量。NT-1、NT-2、NT-3 为常温处理的 3 次生物学重复; LT3-1、LT3-2、LT3-3 为低温胁迫处理 3 h 的 3 次生物学重复; LT6-1、LT6-2、LT6-3 为低温胁迫处理 6 h 的 3 次生物学重复; HT-1、HT-2、HT-3 为高温胁迫处理的 3 次生物学重复。

图 7 不同温度处理下大白菜 *MBF1* 基因的表达量

Fig.7 Expression levels of *MBF1* genes in Chinese cabbage under different temperature treatments

2.7.2 实时荧光定量逆转录 PCR (qRT-PCR) 验证  
对大白菜 *MBF1* 基因家族部分成员进行 qRT-PCR 验证, 高温胁迫 12 h、24 h、48 h 取样均处于昼温 38 °C 时段。结果(图 8)显示, 在低温胁迫条件下, *BrMBF1-01* 基因相对表达量先下调, 随着胁迫时间延长缓慢上调, 并在 24 h 时达到峰值, 然后再次下调(图 8A); *BrMBF1-04* 基因相对表达量在低温胁迫 3 h 时与对照相比下调, 随后在胁迫 6 h 时表达量极显著上调 ( $P < 0.0001$ ), 相比常温对照表达量增加 16 倍, 随后逐渐下调(图 8B)。在高温胁迫条件下, 与常温对照相比, *BrMBF1-01* 基因在胁迫 3~48 h 表达量均极显著上调 ( $P < 0.0010$ ,  $P < 0.0001$ ), 在 12 h 时达到峰值(图 8C); 与常温对照相比, *BrMBF1-04* 基因在高温胁迫 3~48 h 表达量均极显著上调 ( $P < 0.0100$ ,  $P < 0.0001$ ), 在高温胁迫 3 h 时迅速达到峰值, 随后下调(图 8D)。值得注意的是, 与基因 *BrMBF1-01* 相比, *BrMBF1-04* 响应低温及高温胁迫更快、更显著, 这与转录组测序 (RNA-Seq) 数据一致; 在高温胁迫 3~48 h 期间, *BrMBF1-01* 基因呈先上升后下降的表达趋势, 而 *BrMBF1-04* 基因则呈先下降后上升的表达趋势。

### 3 讨论

本研究通过对大白菜全基因组分析, 共鉴定出 6 个 *MBF1* 基因, 根据其在 5 条染色体上的位置, 分

别命名为 *BrMBF1-01* ~ *BrMBF1-06*。与其他物种相比, 大白菜 *MBF1* 家族基因数量多于拟南芥 (3 个)<sup>[6]</sup>、苜蓿 (*Medicago sativa*) (3 个)<sup>[18]</sup>、马铃薯 (*Solanum tuberosum*) (4 个)<sup>[19]</sup>、夏栎 (*Quercus robur*) (2 个)<sup>[20]</sup>, 与沙棘 *MBF1* 家族基因数量相同<sup>[5]</sup>。所有 *BrMBF1* 蛋白均定位于细胞核, 这与拟南芥 *MBF1* 蛋白的亚细胞定位模式一致<sup>[21]</sup>, 但区别于沙棘 (定位于细胞核+细胞质)<sup>[5]</sup>、花椒 (仅定位于细胞质)<sup>[16]</sup>、马铃薯 (定位于细胞核+细胞质)<sup>[19]</sup> 等物种 *MBF1* 蛋白。研究表明, *MBF1* 蛋白的亚细胞定位并非固定不变, 其可在细胞质与细胞核间动态穿梭, 且受植物发育阶段、转录因子互作及环境胁迫的协同调控<sup>[22]</sup>。大白菜 *MBF1* 家族蛋白均定位于细胞核, 这一特征可能与其作为转录共激活因子、直接参与核内基因转录调控的核心功能相关。这类蛋白质无需进行胞质-核穿梭, 即可快速响应胁迫信号<sup>[23]</sup>, 也为其在高温和低温胁迫下的快速响应提供了结构基础。从基因结构、蛋白质结构、系统发育树分析等结果可知, 大白菜、拟南芥、番茄、水稻的 *MBF1* 蛋白可分为 3 个亚家族, 大白菜 *MBF1* 蛋白与拟南芥 *MBF1* 蛋白聚类关系更近。大白菜 *MBF1* 蛋白可分为 3 个组, *BrMBF1-01*、*BrMBF1-02*、*BrMBF1-03* 及 *BrMBF1-06* 为一组, 该组蛋白质外显子数量均为 4 个, 且都含有 motif1、motif2 和 motif4 保守基序,

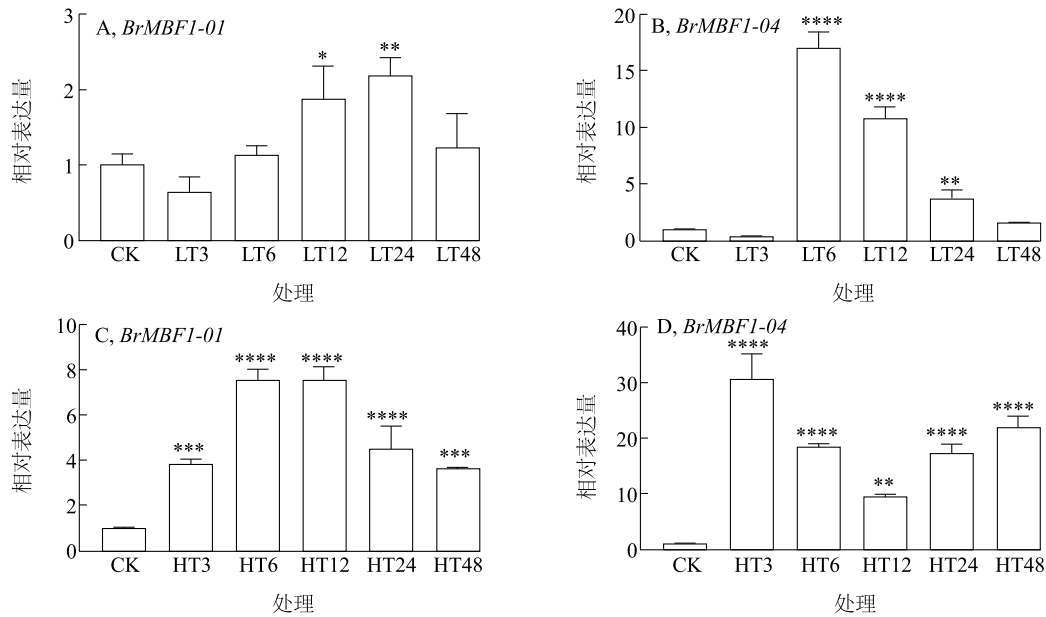


图 A、图 B 为低温胁迫处理;图 C、图 D 为高温胁迫处理。图 A 和图 B 中,CK 表示低温胁迫 0 h(对照);LT3 表示低温胁迫 3 h;LT6 表示低温胁迫 6 h;LT12 表示低温胁迫 12 h;LT24 表示低温胁迫 24 h;LT48 表示低温胁迫 48 h。图 C 和图 D 中,CK 表示高温胁迫 0 h(对照);HT3 表示高温胁迫 3 h;HT6 表示高温胁迫 6 h;HT12 表示高温胁迫 12 h;HT24 表示高温胁迫 24 h;HT48 表示高温胁迫 48 h。图柱上星号表示对照组与处理组之间差异的显著性水平(\*\*\*\*:  $P < 0.0001$ 、\*\*\*:  $P < 0.0010$ 、\*\* :  $P < 0.0100$ 、\* :  $P < 0.0500$ )。

图 8 高温和低温胁迫下 *BrMBF1-01* 和 *BrMBF1-04* 基因相对表达量

Fig.8 Relative expression levels of *BrMBF1-01* and *BrMBF1-04* under high and low temperature stresses

蛋白质三级结构也具有高度相似性,显示其亲缘关系更近;*BrMBF1-04* 蛋白和 *BrMBF1-05* 蛋白分别独立成组,其中 *BrMBF1-04* 无其他家族成员聚类,外显子数量与其他组存在显著差异。研究发现,MBF1 家族成员中 *MBF1c* 为单独一类<sup>[4,24]</sup>,本研究中 *BrMBF1-04* 独立成组,与该研究结论一致,推测 *BrMBF1-04* 即为大白菜中的 *MBF1c* 同源基因。大白菜 *BrMBF1-04* 蛋白与拟南芥 *AtMBF1-03* 蛋白的亲缘相似度达到 100%,而拟南芥 *AtMBF1c* (即 *AtMBF1-03*) 蛋白是植物热胁迫应答的关键调节因子<sup>[25]</sup>,*AtMBF1c* 基因启动子含多个热休克响应元件(HSE)和其他胁迫响应元件,可受热胁迫快速诱导表达。生物在未经过预先温和热胁迫诱导、未获得热驯化的情况下,本身固有的、基础的耐高温能力被称为基础性耐热性<sup>[26]</sup>。研究发现,过表达 *AtMBF1c* 基因拟南芥幼苗的基础耐热性明显高于野生型<sup>[25]</sup>,而 *AtMBF1c* 基因敲除突变体表现出耐热性缺陷表型,低水平过表达 *AtMBF1c* 基因可回补其热敏感表型<sup>[6,13]</sup>。此外,将芥蓝 (*Brassica oleracea* var. *chinensis*) *BocMBF1c* 基因在拟南芥中过表达,可明显提高

植株的耐热性<sup>[17]</sup>。由此推测,大白菜 *BrMBF1-04* 基因行使功能可能与 *AtMBF1c* 相似,即作为热胁迫应答的关键调节因子,参与调控大白菜的基础性耐热性。

转录因子是一种调控基因表达的蛋白质因子<sup>[27]</sup>,通过与基因上游的启动子顺式作用元件相互作用调控基因表达,从而使植物对逆境胁迫产生响应<sup>[28-29]</sup>。大白菜 *MBF1* 基因启动子含有 3 类顺式作用元件:激素响应元件、胁迫响应元件、昼夜节律调控元件,这表明大白菜 *MBF1* 基因可能在生长发育以及逆境胁迫响应方面发挥作用。*MBF1* 基因的表达模式与其功能具有显著相关性,这一规律在不同物种的高温或低温胁迫响应中已得到验证。芥蓝 *BocMBF1c* 基因(与 *AtMBF1c* 基因同源)在低温(4℃)胁迫下表达量呈先上升后下降再上升的波动趋势,且表达量变化幅度低于高温胁迫<sup>[17]</sup>;紫花苜蓿 *MsMBF1c* 基因启动子含 HSE 热休克响应元件,在高温(42℃)胁迫处理 1 h 后驱动  $\beta$ -葡萄糖苷酸酶(*GUS*)基因上调表达,过表达该基因后植株耐热性显著提升<sup>[18]</sup>。本研究通过 RNA-Seq 测定和 qRT-

PCR 验证发现, *BrMBF1* 基因在高温胁迫和低温胁迫下的响应模式既符合家族保守特征, 又体现了大白菜的物种特异性: 低温胁迫下, 除 *BrMBF1-02*、*BrMBF1-03* 外, 其余 4 个基因相对表达量呈先下降后上升的趋势, 即低温胁迫 3 h 时表达量下降, 胁迫 6 h 时表达量上升, 其中 *BrMBF1-04* 基因在低温胁迫 6 h 时表达量显著高于其他成员, 这一现象可能与其启动子含 3 个低温响应元件 (LTR) 密切相关, 而其他成员仅含 1 个或不含有 LTR, 顺式作用元件的数量差异可能导致其低温响应强度不同; 高温胁迫下, 除 *BrMBF1-02* 及 *BrMBF1-06* 基因外, 其余成员均快速响应, 这与青秆<sup>[30]</sup>、小麦<sup>[14]</sup> 等物种 *MBF1* 基因高温快速诱导的保守模式相似, 且 *BrMBF1-04* 基因启动子含有多种响应元件, 响应高温胁迫更显著, 这可能与 *MBF1c* 类基因属于响应高温胁迫的转录因子有关<sup>[31]</sup>。在高温胁迫处理 3~48 h, *BrMBF1-01* 基因与 *BrMBF1-04* 基因表达模式不同, 这可能与二者的分属组别、顺式作用元件分布及编码的蛋白质结构的差异相关。 *BrMBF1-04* 是高温胁迫响应的关键基因, 其启动子含有丰富的胁迫响应元件, 编码的蛋白质结构特异, 高温胁迫响应迅速, 仅 3 h 便达表达峰值。与之相比, *BrMBF1-01* 基因启动子胁迫响应元件较少, 需经 12 h 高温胁迫信号积累方可激活, 表现出显著的转录延迟特征。二者在高温胁迫下表达模式上的显著差异, 明确界定了大白菜 *MBF1* 家族基因在高温胁迫应答过程中的功能分化。

## 4 结论

大白菜 *MBF1* 基因家族 6 个成员同一类群基因结构相似, 种内存在片段重复, 与拟南芥 *MBF1* 基因种间共线性显著, 体现十字花科进化的保守性。该家族基因可分为 3 个组, 其中 *BrMBF1-04* 基因与拟南芥 *AtMBF1-03* 基因亲缘关系高度相似; 该基因对高温和低温胁迫的响应快, 且表达量显著提升, 因此推测其为大白菜响应高温和低温胁迫的核心基因。目前, 大白菜 *MBF1* 基因调控高温和低温胁迫响应的分子机制及其具体路径尚未明确, 是未来需深入探讨的课题。

## 参考文献:

[1] 张凤兰, 苏同兵, 张 斌, 等. 中国大白菜育种 70 年回顾与展

望[J]. 园艺学报, 2025, 52(5): 1111-1135.

- [2] 杨雅婷, 崔志超, 高庆生, 等. 我国大白菜机械化生产现状及发展建议[J]. 中国蔬菜, 2020(11): 9-16.
- [3] 王文丽. 白菜逆境相关转录因子的分析与功能鉴定[D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
- [4] JAIMES-MIRANDA F, CHÁVEZ MONTES R A. The plant MBF1 protein family: a bridge between stress and transcription[J]. Journal of Experimental Botany, 2020, 71(6): 1782-1791.
- [5] 任乾丹, 李昕娟, 张 恬, 等. 沙棘 *MBF1* 基因家族鉴定及铅胁迫下表达分析[J]. 西南农业学报, 2025, 38(4): 703-714.
- [6] 秦 怡, 刘艳爽, 仇柳柳, 等. MBF1 调控植物热应答与生长发育分子机制研究进展[J]. 植物学报, 2022, 57(1): 56-68.
- [7] LI G L, ROY B, LI X H, et al. Quantification of silkworm coactivator of MBF1 mRNA by SYBR Green I real-time RT-PCR reveals tissue- and stage-specific transcription levels[J]. Molecular Biology Reports, 2009, 36(5): 1217-1223.
- [8] XIA D N, GUAN L L, YIN Y, et al. Genome-wide analysis of *MBF1* family genes in five solanaceous plants and functional analysis of SIER24 in salt stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(18): 13965.
- [9] WANG X, CHEN Z Y, GUO J H, et al. OsMBF1a facilitates seed germination by regulating biosynthesis of gibberellic acid and abscisic acid in rice[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(18): 9762.
- [10] ZHANG X, XU Z X, CHEN L C, et al. Comprehensive analysis of multiprotein bridging factor 1 family genes and SIMBF1c negatively regulate the resistance to *Botrytis cinerea* in tomato[J]. BMC Plant Biology, 2019, 19(1): 437.
- [11] PAMELA ARCE D, VERÓNICA GODOY A, TSUDA K, et al. The analysis of an *Arabidopsis* triple knock-down mutant reveals functions for *MBF1* genes under oxidative stress conditions[J]. Journal of Plant Physiology, 2010, 167(3): 194-200.
- [12] YAN Q, HOU H M, SINGER S D, et al. The grape *VvMBF1* gene improves drought stress tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2014, 118(3): 571-582.
- [13] SUZUKI N, SEJIMA H, TAM R, et al. Identification of the MBF1 heat-response regulon of *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Journal, 2011, 66(5): 844-851.
- [14] TIAN X J, QIN Z, ZHAO Y, et al. Stress granule-associated TaMBF1c confers thermotolerance through regulating specific mRNA translation in wheat (*Triticum aestivum*) [J]. The New Phytologist, 2022, 233(4): 1719-1731.
- [15] SALEH O, HARB J, KARRITY A, et al. Identification of differentially expressed genes in two grape varieties cultivated in semi-arid and temperate regions from West-Bank, Palestine [J]. Agri Gene, 2018, 7: 34-42.
- [16] HUI W K, ZHENG H, FAN J T, et al. Genome-wide characterization of the *MBF1* gene family and its expression pattern in different tissues and stresses in *Zanthoxylum armatum* [J]. BMC Ge-

- nomics, 2022, 23(1):652.
- [17] 邹丽芳. 芥蓝 *MBF1c* 调控的耐热性分子生物学基础[D]. 广州:华南农业大学, 2019.
- [18] 李小冬, 莫本田, 牟琼, 等. 紫花苜蓿高温诱导启动子 pMsMBF1c 的克隆与功能分析[J]. 草业学报, 2019, 28(1):128-137.
- [19] 尉瑞敏. 马铃薯 *StMBF1c* 基因参与青枯病抗性的研究[D]. 临汾:山西师范大学, 2021.
- [20] 王寒葶, 张秋月, 叶艺, 等. 夏栎抗性基因 *MBF1* 家族生物信息学分析及逆境响应研究[J]. 四川农业大学学报, 2025, 43(1):193-204.
- [21] SUGIKAWA Y, EBIHARA S, TSUDA K, et al. Transcriptional coactivator MBF1s from *Arabidopsis* predominantly localize in nucleolus[J]. Journal of Plant Research, 2005, 118(6):431-437.
- [22] HUANG S W, LIN Z Q, TUNG S Y, et al. A novel multiprotein bridging factor 1-like protein induces cyst wall protein gene expression and cyst differentiation in *Giardia lamblia*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(3):1370.
- [23] DAI Z M. Transcription factors indirectly regulate genes through nuclear colocalization[J]. Cells, 2019, 8(7):754.
- [24] 曹兴, 郭尚敬, 高祥斌, 等. 百合转录辅激活因子 *LMBF1c* 基因的克隆与表达分析[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(5):1120-1127.
- [25] SUZUKI N, RIZHISKY L, LIANG H J, et al. Enhanced tolerance to environmental stress in transgenic plants expressing the transcriptional coactivator multiprotein bridging factor 1c[J]. Plant Physiology, 2005, 139(3):1313-1322.
- [26] CLARKE S M, MUR L A J, WOOD J E, et al. Salicylic acid dependent signaling promotes basal thermotolerance but is not essential for acquired thermotolerance in *Arabidopsis thaliana*[J]. The Plant Journal, 2004, 38(3):432-447.
- [27] ERPEN L, DEVI H S, GROSSER J W, et al. Potential use of the DREB/ERF, MYB, NAC and WRKY transcription factors to improve abiotic and biotic stress in transgenic plants[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2018, 132(1):1-25.
- [28] YANG H J, ZHOU Y, ZHANG Y N, et al. Identification of transcription factors of nitrate reductase gene promoters and NRE2 cis-element through yeast one-hybrid screening in *Nicotiana tabacum*[J]. BMC Plant Biology, 2019, 19(1):145.
- [29] SHESHADRI S A, NISHANTH M J, SIMON B. Stress-mediated cis-element transcription factor interactions interconnecting primary and specialized metabolism in planta[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7:1725.
- [30] 刘奎, 李兴芬, 杨沛欣, 等. 青秆转录共激活因子 PwMBF1c 的功能研究与验证[J]. 生物技术通报, 2023, 39(5):205-216.
- [31] 江海燕, 杜菊花, 毛恋, 等. 植物响应高温胁迫转录因子研究进展[J]. 分子植物育种, 2020, 18(10):3251-3258.

(责任编辑:黄克玲)