

盐胁迫下拟南芥去乙酰化酶基因的转录组分析

欧艺鹏, 黄轩雅, 陈功春, 林娟
(复旦大学生命科学学院遗传工程国家重点实验室, 上海 200438)

摘 要: 为了探究盐胁迫下拟南芥 HD2 去乙酰化酶调控的下游基因, 本研究以拟南芥野生型 WT 和四突(*hd2q*, HD2 四个基因的突变体)为材料, 采用 RNA-seq 技术和生物信息学方法, 对生长 10 d 的幼苗在高盐(150 mmol/L NaCl)处理前和后进行比较转录组分析, 并结合实时荧光定量 PCR 验证转录组数据的可靠性. 结果显示: 在高盐处理前 WT 和 *hd2q* 共有 25 个差异基因, 其中上调基因 2 个, 下调基因 23 个. 在高盐处理后, WT 和 *hd2q* 共有 1407 个差异基因, 其中上调基因 772 个, 下调基因 635 个. GO 和 KEGG 分析显示, 对照组的差异基因主要富集在胞外区域和响应脱落酸上, 盐处理组的差异基因主要富集在胞外区域和细胞壁上, 并且发现有 41 个与盐响应途径相关的差异基因(27 个上调基因, 14 个下调基因). 结果表明拟南芥 HD2 去乙酰化酶调控下游盐响应基因从而使拟南芥适应盐胁迫环境.

关键词: 拟南芥; 幼苗; 转录组; 盐处理; HD2 去乙酰化酶

中图分类号: Q946.2 **文献标识码:** A **DOI:** 10.19907/j.0490-6756.2022.016003

Transcriptome analysis of *Arabidopsis thaliana*
deacetylase gene under salt stress

OU Yi-Peng, HUANG Xuan-Ya, CHEN Gong-Chun, LIN Juan
(State Key Laboratory of Genetic Engineering, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200438, China)

Abstract: In order to explore the downstream genes regulated by HD2 deacetylase in *Arabidopsis thaliana* under salt stress, wild-type and *hd2q* (HD2 four mutants) of *Arabidopsis thaliana* were used in this study. RNA-seq and bioinformatics methods were used to analyze the transcriptome of 10 days old seedlings before and after high salt (150 mmol/L NaCl) treatment, and the reliability of transcriptome data was testified by real-time quantitative PCR. The results showed that there were 25 differentially expressed genes in WT and *hd2q*, including 2 up-regulated genes and 23 down-regulated genes. After high salt treatment, there were 1407 differentially expressed genes in WT and *hd2q*, including 772 up-regulated genes and 635 down-regulated genes. GO and KEGG analysis showed that the differential expressed genes in the control group were mainly enriched in the extracellular region and response to abscisic acid, while the differential expressed genes in the salt treatment group were mainly enriched in the extracellular region and cell wall, and 41 differentially expressed genes (27 up-regulated and 14 down-regulated) in salt-responsive pathways were identified. Our results suggest that HD2 deacetylase regulates downstream salt responsive genes to adapt *Arabidopsis* to salt stress.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*; Seedling; Transcriptome; Salt treatment; HD2 deacetylase

收稿日期: 2021-04-22
基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31170287)
作者简介: 欧艺鹏(1995—), 男, 广东广州人, 硕士研究生, 研究方向为植物逆境生物学. E-mail: 18210700128@fudan.edu.cn
通讯作者: 林娟. E-mail: linjuan@fudan.edu.cn

1 引言

高等植物在整个生命过程中是固着生长的,它们在面对环境中的各种不利因素时,不会向动物一样自由地移动和躲避^[1],需要进化出一种机制适应这些环境的变化.因此研究植物在逆境胁迫中的响应机制具有十分重要的意义.植物的逆境响应机制包括代谢途径的改变和抗逆基因表达水平的改变,而表观遗传修饰在这两个过程中均发挥了重要的作用.在真核生物中,组蛋白乙酰化是最早被发现的一种组蛋白修饰类型,它是转录激活的标志,是各种氨基酸末端修饰中了解最为清楚的一种.作为一种重要的表观遗传现象,这种修饰在调节植物不同发育过程和维持基因组稳定中起着重要的作用.组蛋白末端的乙酰化状态在组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferase, HAT)^[2]和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)^[3]的作用下保持着动态平衡,并与染色质的转录活性状态密切相关^[4,5].

植物中的去乙酰化酶基因最早在玉米中被克隆^[6],之后在拟南芥、水稻和大麦中克隆到多个去乙酰化酶基因.在植物中研究的较多是拟南芥中的去乙酰化酶,已鉴定到的去乙酰化酶成员有 18 个,分属于 3 个亚家族:RPD3 (reduced potassium dependency 3), SIR2 (silent information regulator 2)和 HDT (histone deacetylase-tuins)^[7].植物受到外界胁迫时,体内抗逆相关基因表达水平的改变伴随着组蛋白的乙酰化和去乙酰化修饰和染色质状态的改变,继而影响下游相关基因的表达,产生相关蛋白来适应环境的改变,因此组蛋白去乙酰化可调控生物逆境与非生物逆境相关基因的表达^[8-10].以前的研究发现拟南芥的 RPD3 亚家族的多个成员参与了不同的逆境调控,特别是高盐胁迫.如 *HDA19* 是最早被研究并被证明和植物抗逆相关的去乙酰化酶基因^[11],*HDA19* 基因突变体 *hda19-1* 对 ABA 和高盐表现出较高的敏感性,同时 *hda19-1* 植株中 ABA 诱导基因的表达也被抑制^[12].拟南芥的 RPD3 亚家族参与的盐胁迫与特有的一类组蛋白去乙酰化酶 HD2 亚家族相关,如在转基因拟南芥植物中,*HD2C* 的过度表达赋予了 ABA 不敏感表型,并增强了对盐和干旱胁迫的耐受性^[13]; *HD2C* 基因的 T-DNA 插入突变体 *hd2c-1* 和 *hd2c-3* 植株在发芽期对 ABA 和 NaCl

的敏感性增加,幼苗对盐胁迫的耐受性降低^[14]. *HDA6* 基因的缺失突变体 *hda6* 和 RNA 干扰植株表现出对 ABA 和高盐的敏感性表型^[12]. *HD2C* 和 *HDA6* 在植物体内相互作用,共同参与 ABA 和盐胁迫反应.拟南芥中的 HD2 共包括四个成员, *HD2A*, *HD2B*, *HD2C* 和 *HD2D*,在高盐处理下四个基因的表达水平均受到了影响,除了 *HD2C* 基因外, *HD2D* 基因过表达的拟南芥对于干旱、盐和冷胁迫表现出更强的耐受性^[15]. *HDA6* 除了能与 *HD2C* 相互作用外,还能与 *HD2D* 相互作用, *HD2D* 也能与同家族的 *HD2A* 和 *HD2C* 相互作用, *HD2B* 和 *HD2C* 之间也能相互作用^[16].这些结果均显示拟南芥的组蛋白去乙酰化酶共同参与了植物对高盐、干旱等环境压力基因的调控.

为了探究高盐胁迫下,组蛋白的去乙酰化酶在植物抵御和适应高盐胁迫中的作用,以及对下游基因的调控,本研究以拟南芥野生型 Col-0 和 *hd2q* (四基因突变体)为材料,对生长在 1/2 MS 培养基和含有 150 mmol/L NaCl 的 1/2 MS 10 d 后的幼苗进行高通量转录组测序,分析了拟南芥野生型 Col-0 和 *hd2q* 幼苗在 NaCl 处理前后差异表达的基因,并通过比较发现盐胁迫下的响应大多与组蛋白的去乙酰化相关,这一研究为搜寻 HD2 家族调控的下游基因提供理论依据.

2 材料与方法

2.1 供试材料

拟南芥野生型植物 WT (Columbia 生态型), *hd2a* (CS348580), *hd2b* (SALK_049380C), *hd2c* (SALK_129799C), *hd2d* (SALK_104071C) 购自 Arabidopsis Biological Resource Center at Ohio State University (ABRC, <http://abrc.osu.edu>).

2.2 方法

2.2.1 *HDT* 单基因纯合突变体的检测 图 1 显示了四种单突变体 T-DNA 插入的位置, *HD2A* 基因的突变体(*hd2a*) T-DNA 插入位置在 *HD2A* 基因的第 3 外显子上; *HD2B* 基因的突变体(*hd2b*) T-DNA 插入位置在 *HD2B* 基因的启动子上, *HD2C* 基因的突变体(*hd2c*) T-DNA 插入位置在 *HD2C* 基因的第 5 内含子上, *HD2D* 基因的突变体(*hd2d*) T-DNA 插入位置在 *HD2D* 基因的启动子上(图 1).纯合的突变体植株的鉴定根据网站 SIGnAL (Salk Institute Genomic Analysis Labora-

tory, <http://signal.salk.edu/tdnaprimers.2.html>提供的方法进行检测。

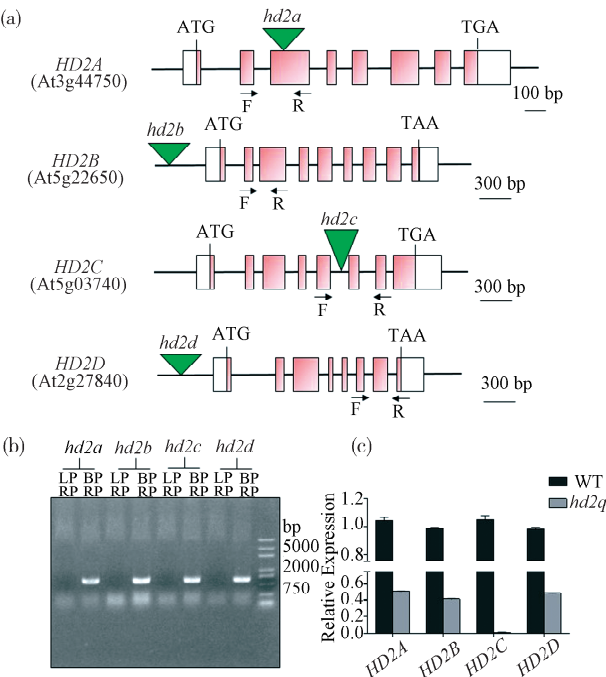


图 1 *hd2q* 突变体的鉴定

(a) HD2 家族 4 个基因的结构图和 T-DNA 插入位置; (b) T-DNA 大小带鉴定 (LP、BP、RP 为 T-DNA 相应的引物); (c) *hd2q* 纯合植株中 HD2 家族基因 RT-qPCR 测定。Actin2 用作内参基因, 实验重复三次计算标准差

Fig. 1 Identification of *hd2q* mutants

2.2.2 HD2D 四基因纯合突变体的获得 采用拟南芥杂交的方法获得四基因纯合突变体^[17]。选择刚冒白的花朵, 剪去多余的部分, 只留柱头, 将父本的花粉抖到柱头上, 用套子覆盖, 第二天重复授粉。将 *hd2b*(♀)和 *hd2a*(♂)杂交, 或 *hd2d*(♀)和 *hd2c*(♂)杂交, 分别获得两个双突变体 *hd2a hd2b* 和 *hd2c hd2d*, 再将这两个双突变体 *hd2c hd2d* (♀)与 *hd2a hd2b*(♂)杂交, 经过 5 代的筛选, 得到纯合四突变体 *hd2q* (*hd2a hd2b hd2c hd2d*)。

2.2.3 材料处理 拟南芥野生型 WT 和突变体 *hd2q* 的种子在超净工作台中, 用 70%乙醇消毒 15 min 后, 无菌水多次洗涤, 均匀点在 1/2 MS 培养基和含有 150 mmol/L NaCl 的 1/2 MS 培养基上。所有植物材料生长条件一致, 均培养在恒温温室 (22 °C), 湿度 65%, 光周期为 16 h 光照, 8 h 黑暗。

2.2.4 RNA 提取、cDNA 文库和深度测序 用 CWBIO 公司的植物 RNA 提取试剂盒提取 10 d 幼苗的总 RNA, 吸取部分 RNA 交给金唯智有限公司使用 Illumina HiSeq2000 进行测序。其余 RNA 用 TaKaRa 公司反转录试剂盒合成 cDNA 第一链。

2.2.5 差异表达基因 (DEG) 分析 基因表达计算使用 Htseq 软件 (V0. 6. 1), 使用 FPKM (Fragments Per Kilo bases per Million reads) 方法计算基因表达量^[18], 公式为 $FPKM = \frac{\text{Total exon fragment}}{[\text{Mapped fragment (millions)} \times \text{exon length (KB)}]}$ 。差异表达基因以 edgeR 软件对 WT vs *hd2q* 和 WT 处理 vs *hd2q* 处理进行筛选, 筛选标准为 $P \leq 0.05$ 且 $\log_2 \text{fold change} \geq 1$ ^[19]。

2.2.6 GO 和 KEGG 富集分析 使用 GOSec v1. 34. 1 和 TopGO v2. 18. 0 分析对照组和实验组的差异基因, 获得每个基因的 GO 信息。运用 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 网站对所有基因进行代谢通路分析, 获得 KEGG 注释信息和 pathway 注释。

2.2.7 基因表达量的分析 Real-Time PCR 扩增使用 TaKaRa 公司 TB GREEN 试剂盒, Actin-R 为拟南芥的内参基因, 采用 BIO-RAD 定量 PCR 仪进行扩增。Real-Time PCR 程序为 95 °C (10 min); 95 °C (15 s); 60 °C (1 min), 40 个循环。根据程序导出 CT 值数据, 利用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 获得相对表达量数据, 每个样本 3 次生物性重复。

3 结果与分析

3.1 拟南芥 HDAC 不同亚家族基因在高盐条件下的表达特征

拟南芥全基因组有 18 个组蛋白去乙酰化酶基因 (HDAC), 以前的研究显示 HD2 亚家族中的 HD2A, HD2B, HD2C 和 HD2D 在高盐和 ABA 处理下总体呈下降趋势^[13], 为了全面了解拟南芥 HDAC 是否受高盐调控, 我们采用 RT-qPCR 的进行实验研究 HDAC 全家族在不同程度高盐处理下的表达特征。在 RPD3 亚家族中, 显著而持续地受到模拟高盐环境诱导的基因有 HDA8 和 HDA14。其中 HDA8 的相对表达量呈现盐浓度的增加而提高, HDA14 的相对表达量在不同浓度的 NaCl 处理下持续维持一种高表达状态 (约 2. 7~2. 9 倍) (如图 2 所示); 相反地, 显著受到高盐抑制的 RPD3 亚家族的基因: HDA2, HDA5, HDA15, HDA10 和 HDA17。其中受到抑制最为明显的是: HDA2, HDA5 和 HDA10。另外 HDA7 和 HDA18 在幼苗组织中表达量极低^[20], 野生型幼苗在各种高盐梯度处理下 qPCR 均没有检测到这两个基因有效的扩增。在 HD2 亚家族中, 显著而持续地受到模拟高盐环境诱导的基因: HD2C 和

HD2D; 两者的表达量均随盐浓度的提高而逐渐增加, *HD2C* 的变化幅度高于 *HD2D* (如图 2 所示). *HD2B* 基因的表达量的上升虽未达 2 倍的基准, 但从趋势可以发现其随盐浓度的提高也逐渐增加, 只是增加的幅度较小, 尚不能判断为显著变化. 在 *SIR* 亚家族中, 仅有的两个成员 *SRT1* 和 *SRT2* 在高盐处理下表达量变化不显著. 从高盐处理下整个 HDAC 家族 mRNA 的表达特征看, *HDA8*, *HDA14*, *HD2C* 和 *HD2D* 受诱导明显并且表达变化的趋势与盐浓度的提高较为一致, 显示这些基因与拟南芥幼苗应对高盐环境有直接联系; 而 *HDA2*, *HDA5*, *HDA15*, *HDA10* 和 *HDA17* 则明显受到高盐抑制, 这些基因主要在拟南芥的发育胚胎或花序分生组织中表达^[20], 我们推测由于它们在拟南芥幼苗应对逆境时不发挥作用因而被抑制.

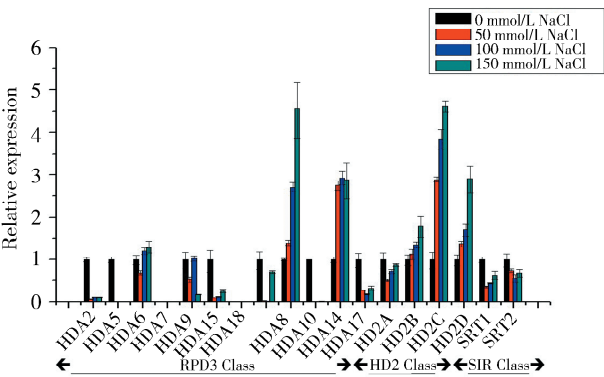


图 2 HDAC 不同亚家族荧光定量 PCR 分析
测定在含有 0 mmol/L, 50 mmol/L, 100 mmol/L 和 150 mmol/L NaCl 的 1/2 MS 培养基生长 10 d 野生型拟南芥的 HDAC 家族基因的 mRNA 表达谱. Actin2 用作内参基因, 实验重复三次计算标准差

3.2 四突 *hd2q* 鉴定

T-DNA 大小带鉴定和 Real-time 表达量如图 1. 在 *hd2q* 四突里, *hd2a*、*hd2b* 和 *hd2d* 的相对表达量约为 0.5, *hd2c* 的相对表达量为 0.02. 从表达量上看, *hd2a*、*hd2b*、*hd2d* 为弱表达, *hd2c* 接近缺失, 确定 *hd2q* 四突为可以使用的材料.

3.3 深度测序数据的质控和评估

以拟南芥野生型 WT 和 *hd2q* (四基因突变体) 为材料, 对生长在 1/2 MS 培养基和含有 150 mmol/L NaCl 的 1/2 MS 培养基 10 d 后的幼苗进行高通量转录组测序. WT 和 *hd2q* 的 RNA-seq 分

别得到 44 252 886 和 42 723 880 条 raw reads, 经质控得到的 clean reads 分别为 44 021 642 和 42 469 556 条. WT 和 *hd2q* 两端 Q30 (99.9% 碱基正确率) 分别为 95.12% 和 95.19%. 此外, WT 和 *hd2q* 的序列比对参考基因组的 mapping 率分别为 97.11% 和 96.98%. WT_{处理} 和 *hd2q*_{处理} 的 RNA-seq 分别得到 43 951 068 和 43 751 982 条 raw reads, 经质控得到的 clean reads 分别为 43 864 400 和 43 652 376 条. WT_{处理} 和 *hd2q*_{处理} 两端 Q30 (99.9% 碱基正确率) 分别为 94.65% 和 94.55%. 此外, WT_{处理} 和 *hd2q*_{处理} 的序列比对参考基因组的 mapping 率分别为 96.92% 和 96.89%. 上述结果共同表明本研究获得的测序数据良好, 可满足后续分析.

3.4 差异表达基因的功能分析

WT 和 *hd2q* 进行差异分析, 结果显示共有 25 个差异基因, 其中上调的基因有 2 个, 下调的基因有 23 个. 图 3a 显示了富集最显著的 30 个 GO 分类和功能注释的结果, 从图中可以看出生物学过程、细胞组分和分子功能 3 大类中, 每个类别分别包括 17、6、7 个功能组. 按聚类数目依次排序为: 细胞外区域 (8), 以种子休眠结束的胚发育 (5), 脱落酸反应 (5), 养分库活动 (4) 等.

WT_{处理} 和 *hd2q*_{处理} 进行差异分析, 结果显示共有 1407 个差异基因, 其中上调的基因有 772 个, 下调的基因有 635 个. 图 3b 显示了富集最显著的 30 个 GO 分类和功能注释的结果, 从图中可以看出生物学过程、细胞组分和分子功能 3 大类中, 每个类别分别包括 14、4、12 个功能组. 按聚类数目依次排序为: 细胞外区域 (285), 细胞壁 (71), 氧化还原反应 (70), 质外体 (59), 植物性细胞壁 (49) 等.

3.5 *hd2q* 四突影响的盐响应基因

我们发现 WT_{处理} 和 *hd2q*_{处理} 组中共有 41 个与盐响应 (response to salt stress) 途径相关的差异基因, 其中上调的基因有 27 个, 下调的有 14 个. 我们列举了响应盐途径 P 值最小的 10 个基因 (如表 1、2). 由于去乙酰化酶抑制基因的表达, 所以我们选取盐响应途径上调的 10 个基因, 对 *hd2q* 四突进行荧光定量 PCR 验证, 结果与转录组一致 (如图 4).

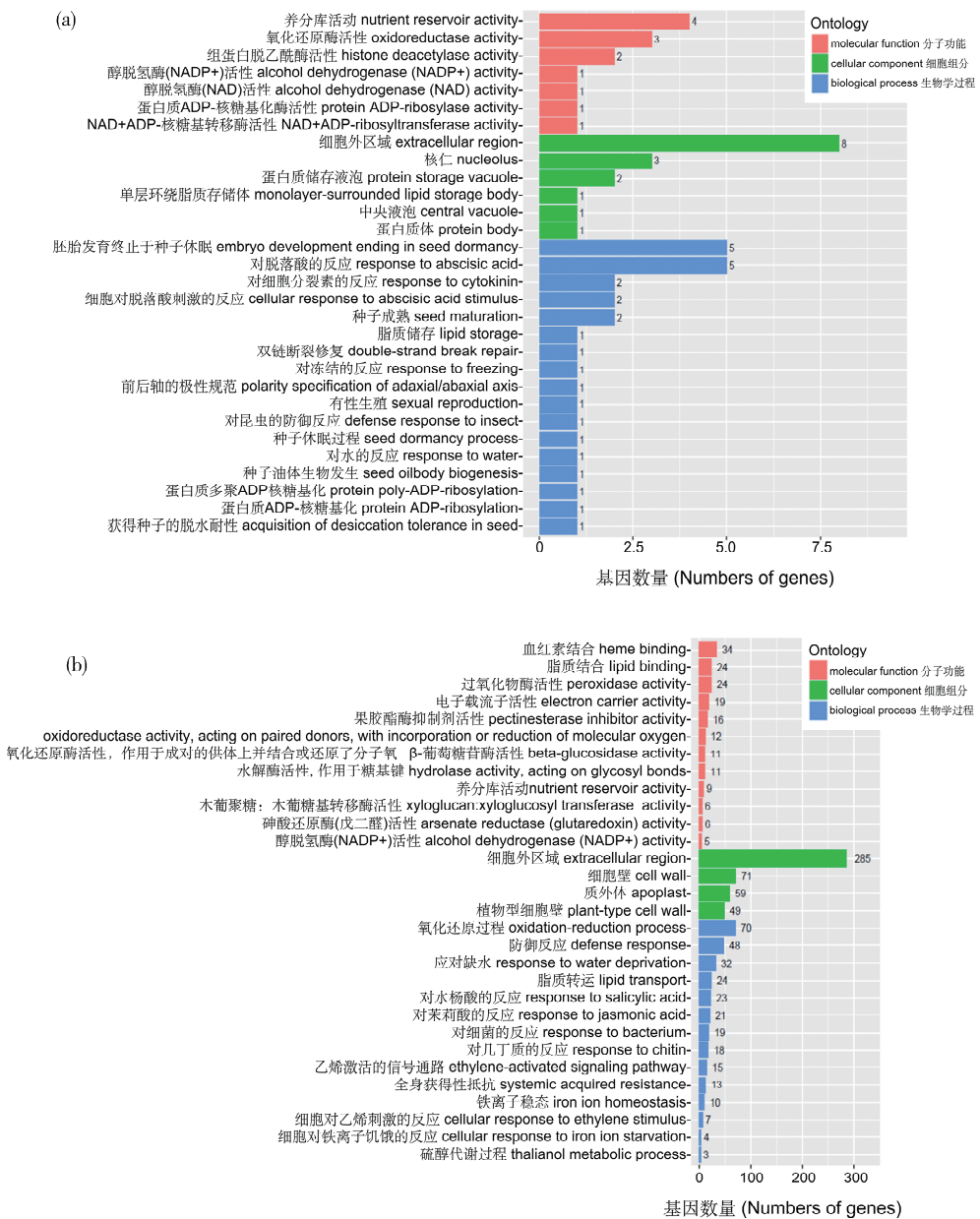


图 3 GO 数据库注释

(a) WT 和 *hd2q* 比较中 DEG 的 GO 数据库注释; (b) WT 处理和 *hd2q* 处理比较中 DEG 的 GO 数据库注释. 测定在含有 150 mmol/L NaCl 的 1/2 MS 培养基生长 10 *dhd2q* 幼苗的 mRNA 表达谱. Actin2 用作内参基因, 实验重复三次计算标准差

Fig 3 GO database annotation

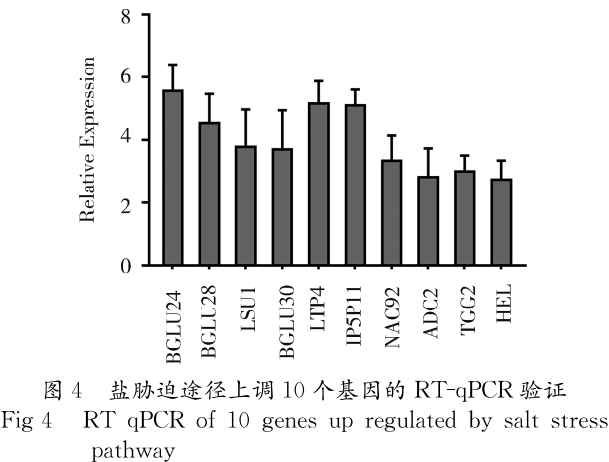


图 4 盐胁迫途径上调 10 个基因的 RT-qPCR 验证

Fig 4 RT qPCR of 10 genes up regulated by salt stress pathway

4 讨论

基因表达可以通过表观遗传机制调节, 包括 DNA 甲基化, 组蛋白修饰和小 RNA 的作用. 这些表观遗传机制是植物适应非生物胁迫的重要决定因素^[21]. 盐胁迫下组蛋白修饰的变化涉及植物发育和生长的调节, 染色质结构的改变会改变靶基因的表达. HD2 家族是植物中特有的 HDAC 家族, 所以我们选择对 *hd2q* 进行转录组测序, 寻找植物在组蛋白去乙酰化修饰下影响盐胁迫相关响应的基因.

表 1 WT_{处理}和和 *hd2q*_{处理} 组响应盐胁迫上调的基因

Tab. 1 Genes up regulated in WT and *hd2q* groups in response to salt stress

基因 ID	基因名称	基因描述	<i>P</i> 值	log ₂ fold change
AT5G28510	BGLU24	β -葡萄糖苷酶 24	6.77E-05	3.86672
AT2G44460	BGLU28	β -葡萄糖苷酶 28	0.00020	2.58791
AT3G49580	LSU1	响应低硫反应 1	0.00050	2.41981
AT3G60140	BGLU30	β -葡萄糖苷酶 30	0.00057	2.38714
AT5G59310	LTP4	非特异性脂质转移蛋白 4	0.00147	2.77378
AT1G47510	IP5P11	Ⅳ型肌醇多磷酸 5-磷酸酶 11	0.00194	2.75251
AT5G39610	NAC92	含 NAC 结构域的蛋白质 92	0.00220	2.24288
AT4G34710	ADC2	精氨酸脱羧酶 2	0.00300	2.01178
AT5G25980	TGG2	芥子酶 2	0.00330	1.99256
AT3G04720	HEL	类静脉前蛋白	0.00889	1.76013

表 2 WT_{处理}和和 *hd2q*_{处理} 组响应盐胁迫下调的基因

Tab. 2 Genes down regulated in WT and *hd2q* groups in response to salt stress

基因 ID	基因名称	基因描述	<i>P</i> 值	log ₂ fold change
AT5G44440	—	FAD 结合的 Berberine 家族蛋白	3.58E-09	−9.52406
AT4G10310	HKT1	钠转运蛋白 HKT1	1.09E-06	−5.68892
AT2G38340	DREB2E	脱水反应元件结合蛋白 2E	0.00015	−2.80401
AT1G51470	TGG5	黑芥子酶 5	0.00266	−2.12313
AT1G47600	TGG4	黑芥子酶 4	0.00325	−2.10844
AT1G10170	ATNFXL1	NF-X-like 1	0.00581	−1.86270
AT3G54770	ARP1	RNA 结合蛋白 ARP1	0.00937	−1.85334
AT5G54230	MYB49	Myb 结构域蛋白 49	0.00981	−2.27136
AT1G18330	RVE7	蛋白质 REVEILLE 7	0.01575	−1.76783
AT3G48360	BT2	含 BTB / POZ 和 TAZ 结构域的蛋白 2	0.01884	−1.58257

对照下,*hd2q* 与 WT 的差异基因比较少. 但盐处理后,*hd2q* 与 WT 的差异基因有 1000 多个. 说明了 HD2 家族会调控盐胁迫环境下的基因. 对于为什么 hdt 四突在对照情况下差异基因较少, 我们推测可能是因为该家族不属于 HDAC 家族中最重要的成员, 在正常环境下不需要 HD2 家族成员发挥去乙酰化的功能, 主要依靠其他 HDAC 家族成员行使功能. HD2 家族负责的是盐胁迫环境下的基因调控, 所以盐处理组的 *hd2q* 差异基因更多.

对盐处理组的转录组分析, 我们发现 *hd2q* 影响了很多响应盐胁迫的差异基因, 并且在一些与盐相关的途径也有差异基因, 比如响应脱水过程, Na 离子运输体等. 这说明了 HD2 家族通过对组蛋白去乙酰化影响了下游一大类基因. 在上调的基因中, 发现有 3 个葡萄糖苷酶(表 1), 而且这 3 个酶 BGLU24(log₂ fold change=3.9), BGLU28(log₂

fold change=2.6) 和 BGLU30(log₂ fold change=2.4) 都属于同一个家族, 但这 3 个基因不属于同一染色体上, 这说明 HD2 家族可能是特异性调控这一类基因. 这类酶有可能像葡萄糖转移酶一样可以结合其他蛋白一起相互作用^[22], 未来可以尝试去乙酰化酶与葡萄糖苷酶的相互作用实验. 在下调的基因中我们发现了 1 个明星基因 HKT1(log₂ fold change=−5.7). HKT1 主要负责钠离子转运^[23], 是拟南芥响应盐胁迫中比较重要的基因. 植物处于盐胁迫环境时会抑制 HKT1 的表达, 从而减轻盐胁迫对植物的损伤^[24]. 目前还需要进一步的工作来完全阐明植物对盐胁迫反应的组蛋白去乙酰化修饰机制. 我们的研究揭示了 HD2 家族影响的基因, 为以后进一步阐明下游机制提供了基础.

表 3 实验所用引物
Tab. 3 Primers used in the experiment

用途	引物名称	引物(5'-3')
T-DNA 鉴定	HD2A-J	F:TAAAGAGTAAAGACCCTAACGGCG R:CAGGCTTCTTAGGTGTAGGCTCTT
	HD2B-J	F:AAGCTGATACCGAAACCAAGC R:RP GATACCGCATCAGCTTCAATC
	HD2C-J	F:GCGCTGTCTCATACTTGGAAG R:ATGAGGAGTTGCAACATGGAC
	HD2D-J	F:CAGAGAAAGCGATGTCGTTTC R:AGTGGGCTTATTTTGAATCGG
	LBb1. 3	F:ATTTTGCCGATTTCGGAAC
	08474	F:ATAATAACGCTGCGGACATCTACATTTT
RPD3Class 表达量测定	HDA2-R	F:CATCATTGTACTGCTGAAAGAG R:CTATAATCGAAAGGGTATATCTCGG
	HDA5-R	F:AAGAAGGTTGGTGTGAACTGATG R:GAGGTCCTTGAATTTGTTTGCTTC
	HDA6-R	F:GACGAAAGCGGCATCTCTCT R:GGCTAGGGCGACTGATTTCT
	HDA7-R	F:TGATTGCCTTCGGTTCTTAA R:CAACGTGTTCCCTATCCTCT
	HDA9-R	F:TCGTGAAATCTCTGCGACTTC R:TTGTCCTTGGAACGCATCTCTT
	HDA15-R	F:CAGTGATCAAGGTGCTTCTG R:CACTTTTGTTTTCGATCAGACG
	HDA18-R	F:GTTATGTTGAAGAAGCTGATGG R:ATTCTCATTAGACGCCATTGAC
	HDA19-R	F:AGATACAAAGGACAAGGATGG R:TCCACTGCTTCATTTTACCT
	HDA8-R	F:CCTCATGTCAATTGGTTTACC R:CTAGCTTCTCAATGTACTCTGA
	HDA10-R	F:CATGCTGAATGTGGAGGATA R:CGTGTTGAATGTATCGCAA
	HDA14-R	F:CATTCTTTGTTCTGGAAGTG R:CTGGATAGATGGTAATAGAGGATTC
HDT 表达 量测定	HDA17-R	F:CTTTTCACAGGACATGCTGA R:AAGATTCTCAATGTGACCACC
	HDT1-R	F:CTCAGGCATCGCTTGGAGAA R:TCCCAAGTGTGAGAAAGCTC
	HDT2-R	F:ACGCTACTAAGGTGACTCCTG R:CCGCTGTGTGAAAGCTCAAA
	HDT3-R	F:AAACCGCATGTCCATGTTGC R:TGCACTGTGTTTGGCCTTTG
	HDT4-R	F:TGCTGCTTTGCCTCAAAATGA R:GAGGGACCACAAGGGAATGG
SIRClass 表达量测定	SRT1-R	F:CTCAACATGAAGATTCTCTCCATATG R:CCAATTAATAAACCTCTGATCTCCG
	SRT2-R	F:GGGATAGAAAGATTGTTCCAGATG R:GTAAACTCCTTCAGATCACCT

(续表 3)

用途	引物名称	引物(5'-3')
上调基因 表达量测定	BGLU24-R	F:GGAGATTGTCTAGGCGGACG R:CGGACTATGTGCGATTCCGA
	BGLU28-R	F:CCACGTAGACCAACAACGTC R:TTCTCCGACAACCATGAGGT
	LSU1-R	F:AGTGGCGGAGATGAAGACAG R:GGAAGAGCATGCGATCGTGA
	BGLU30-R	F:ATCATCGGACCTGGGGAAGA R:TGGTTTTGTACCGTCGTCGT
	LTP4-R	F:TATCAAAGGGTGGGGTGGTG R:TCGTGGAGATGGGATAGGGG
	IP5P11-R	F:TGCATGTGCCTAGTTTCTCTT R:CCCCATTGTCGGCATGTAGT
	NAC92-R	F:TGTCCACGAGTCCAAAGACG R:TGTACCGGACGAATCACGAC
	ADC2-R	F:ACGTTGGTTCCTGATTCCCT R:CCCAACCATGCAGAAGTGGA
	TGG2-R	F:AGATTGGCACAAGGCTTCCA R:AGCAGAAGATGCAACACCGA
RT-qPCR 内参	HEL-R	F:TTTGAGAGCCGTGAGTGCTT R:CAAATCCAAGCCTCCGTTGC
	Actin2-R	F:CTTGCAACCAAGCAGCATGAA R:CCGATCCAGACACTGTACTTCCTT

参考文献:

[1] Umezawa T, Fujita M, Fujita Y, *et al.* Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes to unlock the future [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2006, 17: 113.

[2] Narlikar G J, Fan H Y, Kingston R E. Cooperation between complexes that regulate chromatin structure and transcription [J]. *Cell*, 2002, 108: 475.

[3] Richard E J, Elgin S C. Epigenetic codes for heterochromatin formation and silencing: rounding up the usual suspects [J]. *Cell*, 2002, 108: 489.

[4] Turner B M. Celfular memory and the histone code [J]. *Cell*, 2002, 111: 285.

[5] Courey A J, Jia S. Transcriptional repression: the long and the short of it [J]. *Genes Dev*, 2001, 15: 2786.

[6] Lusser A, Brosch G, Loidl A, *et al.* Identification of maize histone deacetylase HD2 as an acidic nucleolar phosphoprotein [J]. *Science*, 1997, 277: 88.

[7] Pandey R, Müller A, Napoli C A, *et al.* Analysis of histone acetyltransferase and histone deacetylase families of *Arabidopsis thaliana* suggests functional diversification of chromatin modification among multicellular eukaryotes [J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30: 5036.

[8] Song C P, Agarwal M, Ohta M, *et al.* Role of an *Arabidopsis* AP2/EREBP-type transcriptional repressor in abscisic acid and drought stress responses [J]. *Plant Cell*, 2005, 17: 2384.

[9] Song C P, Galbraith D W. AtSAP18, an orthologue of human SAP18, is involved in the regulation of salt stress and mediates transcriptional repression in *Arabidopsis* [J]. *Plant Mol Biol*, 2006, 60: 241.

[10] Matsui A, Ishida J, Morosawa T, *et al.* *Arabidopsis* transcriptome analysis under drought, cold, high-salinity and ABA treatment conditions using a tiling array [J]. *Plant Cell Physiol*, 2008, 49: 1135.

[11] Zhou C, Zhang L, Duan J, *et al.* HISTONE DEACETYLASE19 is involved in jasmonic acid and ethylene signaling of pathogen response in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2005, 17: 1196.

[12] Chen L T and Wu K. Role of histone deacetylases HDA6 and HDA19 in ABA and abiotic stress response [J]. *Plant Signal Behav*, 2010, 5: 1318.

[13] Sridha S, Wu K. Identification of AtHD2C as a novel regulator of abscisic acid responses in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2006, 46: 124.

[14] Luo M, Wang Y Y, Liu X, *et al.* HD2C interacts with HDA6 and is involved in ABA and salt stress response in *Arabidopsis* [J]. *J Exp Bot*, 2012, 63: 3297.

[15] Han Z, Yu H, Zhao Z, *et al.* AtHD2D gene plays a role in plant growth, development, and response

to abiotic stresses in *Arabidopsis thaliana* [J]. Front Plant Sci, 2016, 7: 310.

[16] Chen X, Lu L, Qian S, *et al.* Canonical and noncanonical actions of *Arabidopsis* histone deacetylases in ribosomal RNA processing [J]. Plant Cell, 2018, 30: 134.

[17] Wei D H, Liu M J, Chen H, *et al.* Inducer of CBF expression 1 is a male fertility regulator impacting anther dehydration in *Arabidopsis* [J]. PLoS Genet, 2018, 14: e1007695.

[18] Mortazavi A, Williams B A, McCue K, *et al.* Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq [J]. Nat Methods, 2008, 5: 621.

[19] Li A X, Zhou M Q, Wei D H, *et al.* Transcriptome profiling reveals the negative regulation of multiple plant hormone signaling pathways elicited by overexpression of C-repeat binding factors [J]. Front Plant Sci, 2017, 8: 1647.

[20] Schmid M, Davison T S, Henz S R, *et al.* A gene expression map of *Arabidopsis thaliana* development [J]. Nat Genet, 2005, 37: 501.

[21] Kinoshita T, Seki M. Epigenetic memory for stress response and *Adaptation* in plants [J]. Plant Cell Physiol, 2014, 55: 1859.

[22] Miyauchi Y, Kurita A, Yamashita R, *et al.* Hetero-oligomer formation of mouse UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 2b1 and 1a1 results in the gain of glucuronidation activity towards morphine, an activity which is absent in homo-oligomers of either UGT [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 525: 348.

[23] Kuo H Y, Kang F C, Wang Y Y. Glucosinolate Transporter1 involves in salt-induced jasmonate signaling and alleviates the repression of lateral root growth by salt in *Arabidopsis* [J]. Plant Sci, 2020, 297: 110487.

[24] Chu M, Chen P, Meng S, *et al.* The *Arabidopsis* phosphatase PP2C49 negatively regulates salt tolerance through inhibition of AtHKT1;1 [J]. J Integr Plant Biol, 2021, 63: 528.

引用本文格式:

中 文: 欧艺鹏, 黄轩雅, 陈功春, 等. 盐胁迫下拟南芥去乙酰化酶基因的转录组分析[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2022, 59: 016003.

英 文: Ou Y P, Huang X Y, Chen G C, *et al.* Transcriptome analysis of *Arabidopsis thaliana* deacetylase gene under salt stress [J]. J Sichuan Univ: Nat Sci Ed, 2022, 59: 016003.