

布氏轮藻肌动蛋白基因家族的全基因组鉴定及表达分析

胡莎莎, 张冬群, 张苡芃, 韩鹏举, 兰利琼, 卿人韦
(四川大学生命科学学院生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610065)

摘 要: 为了解肌动蛋白 actin 在轮藻植物生长发育中的潜在功能, 本研究利用生物信息学方法对布氏轮藻肌动蛋白基因家族进行了鉴定及表达分析. 在布氏轮藻中共鉴定出 16 个肌动蛋白基因, 将其重命名为 *CbACT1~CbACT16*, 其氨基酸长度为 361~1182 AA, 相对分子质量为 39 886.71~117 256.72 Da, 等电点介于 4.68~8.93; 亚细胞定位预测显示 15 个肌动蛋白基因位于细胞质中, 1 个位于叶绿体中; 二级结构结果表明肌动蛋白基因主要以无规则卷曲和 α 螺旋为主; 共线性分析中仅发现一对源自片段重复的旁系同源基因; 系统发育结果表明轮藻肌动蛋白基因可以分为两个亚家族, 结合基因结构及保守基序分析, 同一亚家族倾向于具有相似的外显子分布, 较多的共有基序; 基于启动子顺势作用元件分析表明, 16 个肌动蛋白基因参与了许多与生物和非生物胁迫、激素调节和光反应有关的生命活动. 组织表达分析显示, 16 个基因在四种不同组织中存在差异性表达, 表明它们在不同组织的生长发育过程中具有不同的功能. 因此, 轮藻肌动蛋白基因家族可能参与了轮藻植物不同组织的发育过程及响应生物和非生物胁迫等的过程.

关键词: 布氏轮藻; 肌动蛋白基因家族; 系统进化分析; 组织表达差异
中图分类号: Q941 **文献标识码:** A **DOI:** 10.19907/j.0490-6756.2022.046003

Wholegenome identification and expression analysis of
actin gene family in *Chara braunii*

HU Sha-Sha, ZHANG Dong-Qun, ZHANG Yi-Peng,
HAN Peng-Ju, LAN Li-Qiong, QING Ren-Wei

(Key Laboratory of Bio-Resource and Eco-Environment of Ministry of Education,
College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract: In order to understand the potential functions of actin in the growth and development of Charophytes, bioinformatics methods were used to analyze the actin gene family in *Chara braunii*. A total of 16 actin genes were identified in *Chara braunii*, and they were renamed as *CbACT1~CbACT16* according to their order on scaffolds with 361 to 1182 amino acids, and the relative molecular masses ranged from 39 886.71 to 117 256.72 Da, and protein isoelectric point was range from 4.68 to 8.93. Subcellular localization prediction indicated that 15 actin genes were located in the cytoplasm; and only one in the chloroplast. The secondary structure of the actin gene was mainly composed of random coils and α -helices. Only one pair of paralogous genes derived from segmental duplication was found in the collinearity analysis. The phylogenetic results divided actin genes into two subfamilies with the same subfamily tend

收稿日期: 2022-01-12
基金项目: 国家自然科学基金(30470143)
作者简介: 胡莎莎(1999-), 女, 河北邢台人, 硕士研究生, 研究方向为轮藻植物分类及进化研究. E-mail: 1987968674@qq.com
通讯作者: 兰利琼. E-mail: lanlq@scu.edu.cn

to have similar exon distribution and more common motifs. Promoter cis-element analysis indicated that 16 actin genes were involved in many biological activities including biotic and abiotic stresses, hormone regulation and light response. Further tissue expression analysis suggested that 16 genes were differentially expressed in four different tissues, indicating that they have different functions in the growth and development of different tissues. Therefore, the actin gene family may be involved in the development of different tissues and response to biotic and abiotic stresses of Charophytes.

Keywords: *Chara braunii*; Actin gene family; Phylogeny; Tissue expression difference

1 引言

近年来关于基因家族的研究主要集中于转录因子家族、酶家族(激酶、代谢通路相关酶类),如 WRKY 基因家族、MYB 转录因子家族等,关于 Actin 基因家族的分类、功能分析研究较少. Actin 基因家族是一类超基因家族,除了包含典型的 Actin 蛋白外,还含有 ALP 同源蛋白结构域,它们具有称为“actin fold”的共同结构特征,这些蛋白由一个多基因家族编码共同组成了 Actin 基因家族^[1]. 该基因家族在动植物中广泛存在,与各种微丝结合蛋白共同作用,形成独特的微丝骨架结构,参与成膜体结构的组成、囊泡运输、细胞运动、物质转运、胁迫响应等各项生命活动^[2]. 与动物相比,植物肌动蛋白之间的序列差异更大,表明肌动蛋白基因家族可能在植物中具有更加复杂的生物学功能^[3,4].

轮藻植物具有成膜体结构,且微丝、微管等骨架蛋白参与了该结构的组成^[5]. 另外,在轮藻植物中还广泛存在无丝分裂现象,且微丝结构的破坏显著抑制了细胞的无丝分裂过程^[6]. 但目前为止,还未有关于轮藻植物 Actin 基因家族的鉴定、结构分析等相关研究,因此本研究基于布氏轮藻全基因组对 Actin 基因家族进行了鉴定分析,从基因序列特征、蛋白理化性质、结构特征、系统发育、启动子顺式作用元件及组织表达等方面对布氏轮藻的 Actin 基因家族进行系统的研究,以揭示 Actin 基因家族在轮藻中的基因结构、蛋白特征及可能参与的功能,这一结果也将为进一步探究布氏轮藻的 Actin 基因家族的具体的生理生化功能及其特殊结构形成的具体分子机制奠定基础. 同时,可以为探究轮藻植物无丝分裂现象的基因调控机制提供一定的理论依据.

2 材料与方法

2.1 材料

布氏轮藻的基因组文件和注释文件下载于

Phyzone 基因组数据库(<https://phycosm.jgi.doe.gov/Chabral/Chabral.home.html>), 拟南芥 Actin 基因家族下载于拟南芥基因组数据库 TAIR(<https://www.arabidopsis.org/browse/gene-family/index.jsp>).

2.2 方法

2.2.1 成员的鉴定和理化性质分析 利用 TBtools 根据布氏轮藻基因组文件和注释文件提取基因的 CDS 序列,并将 CDS 序列文件转化为蛋白序列文件,去除重复后获得非冗余的蛋白序列文件. 基因家族的鉴定通常包括两种方法,第一种方法利用 Blast 软件通过序列相似性进行序列比对的方法筛选,第二种利用 Pfam 数据库提供的蛋白结构域模型文件摸索未知序列^[7],如果具有相同的结构域则认为该基因属于同一家族成员. 为了获得更完整的布氏轮藻 Actin 基因家族成员,本研究结合了两种方法对布氏轮藻的 Actin 基因家族进行了鉴定. 首先,以拟南芥 Actin 基因家族蛋白序列作为参考与布氏轮藻的蛋白序列进行本地 Blast 比对($E\text{-value} < 10^{-10}$),获得布氏轮藻中 Actin 基因的潜在序列. 在 Pfam 数据库中下载 Actin 结构域的隐马尔可夫模型(PF00022),使用 HMMER 软件对布氏轮藻蛋白序列进行检索($E\text{-value} < 10^{-10}$),筛选包含 Actin 结构域的潜在基因家族. 对 blast 结果与 HMMER 结果取并集,将获得的所有蛋白序列提交至 NCBI 的 CD-search 网站最终获得包含完整 Actin 结构域的基因. 根据基因在 scaffold 上的顺序,将其分别重命名为 CbACT1~CbACT16. 使用 ExPASy 在线网站获得 Actin 基因的等电点、分子质量和序列长度等信息,并预测其不稳定系数和平均亲水系数. 通过 SOPMA 网站预测分析蛋白序列的二级结构,并使用 Plant-mPloc 进行蛋白亚细胞定位分析.

2.2.2 系统发育及基因结构分析 使用 MAFFT 软件对获得的蛋白序列进行比对,比对策略选择 auto 其他参数选择默认^[8]. 将比对结果导入 Phylosuite 软件^[9],使用 Trim AI 对序列进行修剪,并

将其转换为 PHY 格式,最后通过 IQ-TREE 进行建树分析, Bootstrap 设置为 1000^[10], IQTREE 通过自动检测氨基酸替换模型建立最大似然树. 基因结构的展示根据布氏轮藻的 GFF 注释文件, 利用 TBtools 软件的 Gene Structure View 程序进行分析.

2.2.3 蛋白保守基序分析和结构域分析 通过 MEME 在线预测蛋白的保守基序, motif 设置为 10, 其他保持默认选项, 利用 TBtools 软件绘制蛋白保守基序图. 利用 NCBI 的 CD-search 工具对 16 条 Actin 基因进行保守结构域分析, 提取结果文件中的结构域信息, 将其导入 TBtools 对蛋白序列的结构域可视化.

2.2.4 染色体定位及共线性分析 使用 BLAST 对轮藻所有蛋白序列进行双向比对并将双向 Blast 结果进行合并($E < 10^{-5}$). 利用 TBtools 结合 Excel 对 GFF 文件进行简化处理, 将简化的 GFF 文件及 Blast 结果文件作为输入文件, 通过 MCScanX 软件进行共线性分析, 最后利用 TBtools 将结果进行可视化^[11].

2.2.5 启动子区域顺势作用元件分析 使用 TBtools 从布氏轮藻的基因组序列文件中提取 Actin 基因家族成员起始密码子上游 2000 bp 的 DNA 序列作为 Actin 基因的启动子区域, 将其提交至 PlantCARE 网站预测 Actin 所包含的顺式作用元件. 将结果导入到 Excel 中整理, 最后用 TBtools 软件可视化启动子元件.

2.2.6 转录表达模式分析 根据相关文献下载布氏轮藻基因组数据库中的表达矩阵, 检索 16 个 Actin 基因在 4 个不同组织包括营养组织、藏精器、藏卵器及合子中的表达量, 将表达量值经过 $\log_2(\text{FPKM} + 1)$ 转换后利用 TBtools 软件的 HeatMap 绘制基因表达热图.

3 结果与分析

3.1 Actin 基因家族的鉴定和蛋白理化性质分析 通过序列比对和结构域筛选, 共获得布氏轮藻 16 个 Actin 基因, 根据基因所在 Scaffold 的排列顺序将所有基因重命名为 *CbACT1* ~ *CbACT16*. 理化性质分析结果表明 Actin 基因氨基酸数量在 361 (*CbACT9*) ~ 1182 (*CbACT7*) AA 之间, 分子量在 39 886. 71 (*CbACT14*) ~ 117 256. 72 (*CbACT13*) Da 之间, 理论等电点在 4. 68 (*CbACT12*) ~ 8. 93 (*CbACT11*) 之间, 只有三个为碱性蛋白质(理论等电点 > 7), 其余均为酸性蛋白质(理论等电点 > 7). 氨基酸的平均亲水系数表明, 除了 2 个基因 (*CbACT1*、*CbACT15*) 为疏水性蛋白外(平均亲水系数 > 0), 其余均为亲水性蛋白(平均亲水系数 < 0). 不稳定指数表明有 7 个蛋白 (*CbACT2*、*CbACT5*、*CbACT7*、*CbACT11*、*CbACT13*、*CbACT15*、*CbACT116*) 为不稳定蛋白(不稳定指数 > 40), 其余 Actin 基因均为稳定蛋白(不稳定指数 < 40)(表 1).

表 1 布氏轮藻的肌动蛋白基因家族基本特征
Tab. 1 Basic characteristics of the Actin gene family of *Chara braunii*

基因名称	基因 ID	氨基酸长度	相对分子质量/Da	理论等电点	平均亲水系数	不稳定指数	脂肪族氨基酸指数
CbACT1	mRNA_19570	406	44 398. 83	5. 58	0. 005	37. 77	98. 88
CbACT2	mRNA_12128	560	57 696. 21	5. 23	−0. 107	53. 24	82. 58
CbACT3	mRNA_25020	452	49 609. 37	5. 39	−0. 318	39. 72	81. 73
CbACT4	mRNA_28642	378	41 727. 74	5. 3	−0. 155	37. 17	84. 83
CbACT5	mRNA_735	715	77 998. 06	8. 08	−0. 279	50. 49	79. 37
CbACT6	mRNA_13453	380	41 760. 84	5. 52	−0. 137	32. 8	85. 15
CbACT7	mRNA_13456	1182	13 3461. 85	5. 91	−0. 395	47. 32	80. 63
CbACT8	mRNA_13462	377	41 595. 48	5. 38	−0. 175	39. 12	85. 32
CbACT9	mRNA_17292	361	39 890. 76	5. 74	−0. 122	35. 36	86. 14
CbACT10	mRNA_19355	377	41 453. 28	5. 37	−0. 152	35. 35	85. 59
CbACT11	mRNA_24387	580	65 286. 22	8. 93	−0. 355	40	78. 93
CbACT12	mRNA_27207	434	48 696. 44	4. 68	−0. 434	39. 62	77. 88
CbACT13	mRNA_28569	1057	11 7256. 12	6. 45	−0. 286	41. 83	83. 39
CbACT14	mRNA_29937	361	39 886. 71	5. 73	−0. 159	35. 48	86. 69
CbACT15	mRNA_35371	375	39 898. 75	5. 31	0. 118	62. 33	98. 07
CbACT16	mRNA_1279	627	68 483. 15	8. 37	−0. 199	40. 97	84. 09

3.2 二级结构预测及亚细胞定位分析 亚细胞定位预测显示除了 *CbACT13* 定位于

叶绿体之外, 其余均定位于细胞质(表 2). 为了进一步了解 Actin 基因家族的空间结构特征, 对其进

行了二级结构分析,结果表明,16 条 Actin 基因均含有 α 螺旋、无规则卷曲、延伸链和 β 折叠. 其中, α 螺旋和无规则卷曲占二级结构总量的 26. 48% (CbACT2)~ 46. 51% (CbACT2),是该基因家族

的主要二级结构元件;延伸链占比 12. 30% (CbACT15)~22. 22%(CbACT1), β 转角所占比例最少,在 6. 27%(CbACT3)~11. 25%(CbACT16) 之间.

表 2 布氏轮藻的肌动蛋白亚细胞定位及二级结构
Tab. 2 Actin subcellular location and secondary structure of *Chara braunii*

基因名称	基因 ID	亚细胞定位	二级结构比例/% Percentage			
			α -螺旋/%	无规则卷曲/%	延长链/%	β -转角/%
CbACT1	mRNA_19570	cytoplasm	38. 52	31. 85	22. 22	7. 41
CbACT2	mRNA_12128	cytoplasm	26. 48	46. 51	18. 25	8. 77
CbACT3	mRNA_25020	cytoplasm	30. 34	44. 58	18. 81	6. 27
CbACT4	mRNA_28642	cytoplasm	39. 26	32. 36	20. 95	7. 43
CbACT5	mRNA_735	cytoplasm	35. 43	40. 20	16. 95	7. 42
CbACT6	mRNA_13453	cytoplasm	38. 26	34. 04	20. 84	6. 86
CbACT7	mRNA_13456	cytoplasm	35. 06	34. 55	20. 75	9. 65
CbACT8	mRNA_13462	cytoplasm	34. 84	35. 64	22. 07	7. 45
CbACT9	mRNA_17292	cytoplasm	38. 89	34. 72	19. 72	6. 67
CbACT10	mRNA_19355	cytoplasm	37. 50	34. 04	21. 54	6. 91
CbACT11	mRNA_24387	cytoplasm	36. 44	36. 96	19. 69	6. 91
CbACT12	mRNA_27207	cytoplasm	37. 64	40. 42	15. 24	6. 70
CbACT13	mRNA_28569	chloroplast	37. 41	33. 62	18. 37	10. 61
CbACT14	mRNA_29937	cytoplasm	38. 89	33. 89	20. 83	6. 39
CbACT15	mRNA_35371	cytoplasm	41. 18	40. 91	12. 30	5. 61
CbACT16	mRNA_1279	cytoplasm	34. 82	34. 50	19. 17	11. 55

3.3 系统发育和基因结构分析

为了研究布氏轮藻的 Actin 基因家族的系统发育关系和基因结构特征,本研究对布氏轮藻的 16 条 Actin 基因的蛋白序列进行了序列比对建树分析和基因结构分析(图 1). 系统发育分析结果表明布氏轮藻的 Actin 基因可以分为两个亚家族,结合 Actin 基因的结构分析,发现同一亚家族的基因

结构变化较大,外显子数目变化范围在 1~14 之间,这些结构差异的基因进而通过不同的转录加工,参与不同的转录调控过程.

3.4 结构域及保守基序分析

利用 NCBI-CDsearch 对布氏轮藻的 Actin 基因进行结构域分析(图 2),所有的 Actin 基因家族均含有 Actin 的典型结构域,除此之外类型 I 的 CbACT7 还包含有 RT-like 结构域,类型 II 有 2 条序列还包含有 F-box-like、PRK-13357 的结构域,因此在轮藻中 Actin 功能还参与了更加复杂的生命活动. 为了进一步了解序列的保守特征,利用 MEME 在线工具对该基因家族的保守基序进行了预测分析,结果显示: motif7, motif3, motif6 在所有序列中都存在,属于高度保守序列,可能作为 Actin 基因家族保守结构域的关键序列而存在. 基序在不同家族成员中的分布状态均存在一定的差异,进化关系越相近的成员共有的保守基序越相似,如类型 I 蛋白序列均含有基序 1、2、3、4、6、9. 因此这些相同的保守基序表明同一亚家族的成员可能具有相似的功能. 不同的保守基序可能是不同 Actin 执行不同功能所必须.

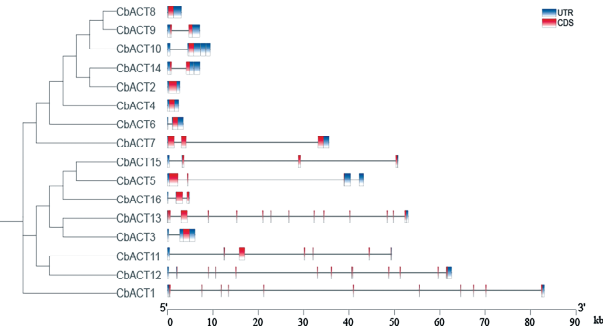


图 1 CbACT 蛋白进化树及基因结构
Fig. 1 CbACT protein evolutionary tree and gene structure

结构较为相似,类型 I 中基因结构较为保守,外显子数目差异较小,基因序列外显子数目均小于 4. 而类型 II 发生了不同程度的内含子插入导致基因

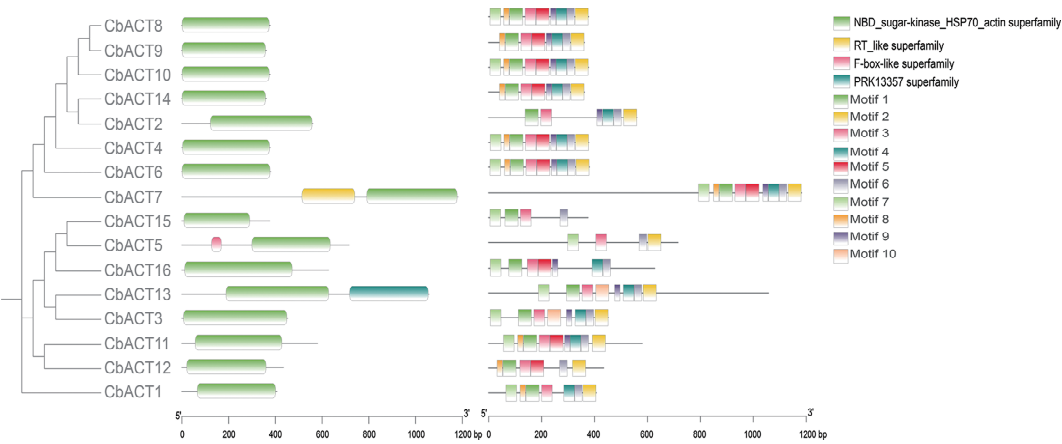


图 2 CbACT 结构域及保守基序
Fig. 2 CbACT domain and conserved motifs

3.5 染色体定位及共线性分析

Actin 基因家族的染色体定位结果表明除了 CbACT6、CbACT7、CbACT8 分布于同一条 scaffold 上,其余单独分布于 13 条 scaffold 上(图 3). 为了研究 Actin 基因家族的扩增机制,利用 TBtools 对布氏轮藻 Actin 基因家族进行物种内共线性分析,结果表明只有一对 Actin 基因为片段复制所产生,没有发现串联重复的基因,推测该植物的 Actin 基因家族成员少部分是由基因片段复制

家族与布氏轮藻的基因组、Actin 基因家族进行了物种间的共线性分析,结果并未发现两两之间存在共线性关系. 由于目前已解析轮藻纲植物及亲缘关系较近的双星藻纲、鞘毛藻纲基因组较少,因此 Actin 基因家族在藻类物种间的进化分析缺乏相关的数据支持,未来随着藻类基因组数据库的更加完善将会为不同基因家族在藻类中的进化分析提供一定的帮助.

3.6 启动子顺式作用元件分析

为了解 Actin 基因家族可能参与的转录调控过程,本研究分析了 16 个 Actin 基因上游 2000 bp 包含的顺势作用元件. 在 16 个 Actin 基因家族中共鉴定出 1094 个顺势作用元件,根据功能将其分为 6 种类型. 所有的 Actin 基因都包含了大量的基本启动子元件(AT-TATA-box、CAAT-box、TA-TA-box)和光响应元件(G-box、Sp1、TCCC-motif). 其他顺式作用元件主要包括胁迫响应元件包括低温胁迫(LTR)、干旱胁迫(MBS)、厌氧响应(ARE、GC-motif)等;激素响应元件包括生长素(AuxRR-core)、赤霉素(GARE-motif)、脱落酸(ABRE、)、水杨酸(TCA)、乙烯(ERE)等响应元件. 除此之外还有包含了组织特异性元件(CAT-box、RY-element)及与玉米黄素代谢有关的特殊元件(O₂-site)(图 4 和图 5). 结果表明布氏轮藻的 Actin 基因广泛参与了轮藻的生长发育、生物和非生物胁迫、激素调控等过程,不同成员之间具有不同数量、种类的启动子元件,从而导致不同成员之间功能的差异性及多样性.

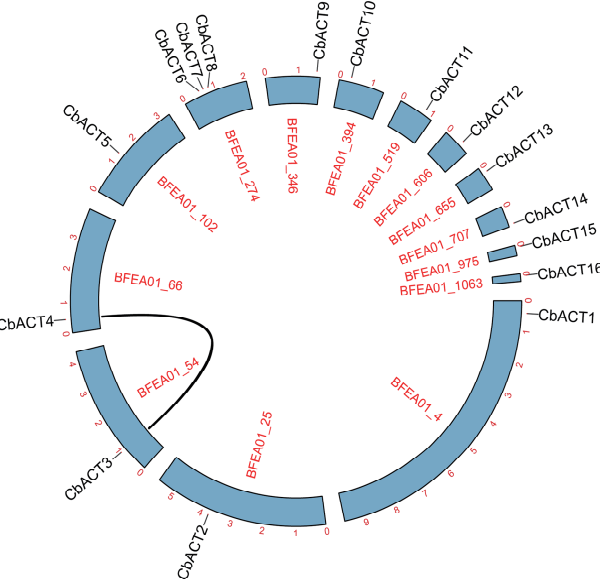


图 3 CbACT 基因染色体定位及共线性分析
Fig. 3 CbACT genes chromosome location and collinearity analysis

产生,大部分成员可能是跟随物种进化遗传而来. 另外为了解 Actin 在不同物种间的进化遗传关系,利用莱茵衣藻、克里藻的全基因组及其 Actin 基因

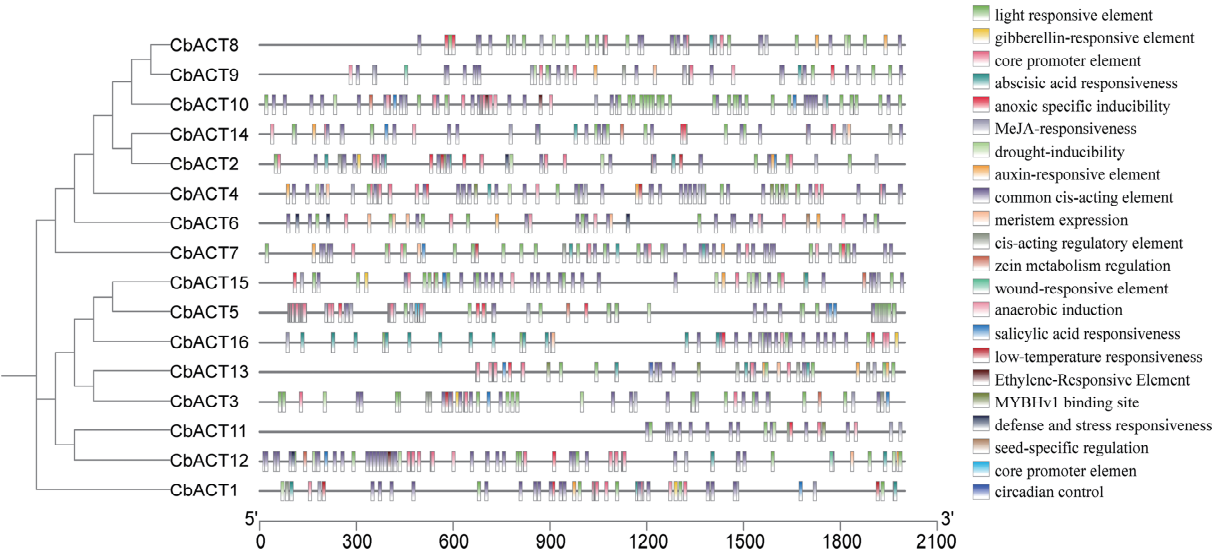


图 4 *CbACT* 启动子顺势作用元件
Fig. 4 *CbACT* promoter cis-elements

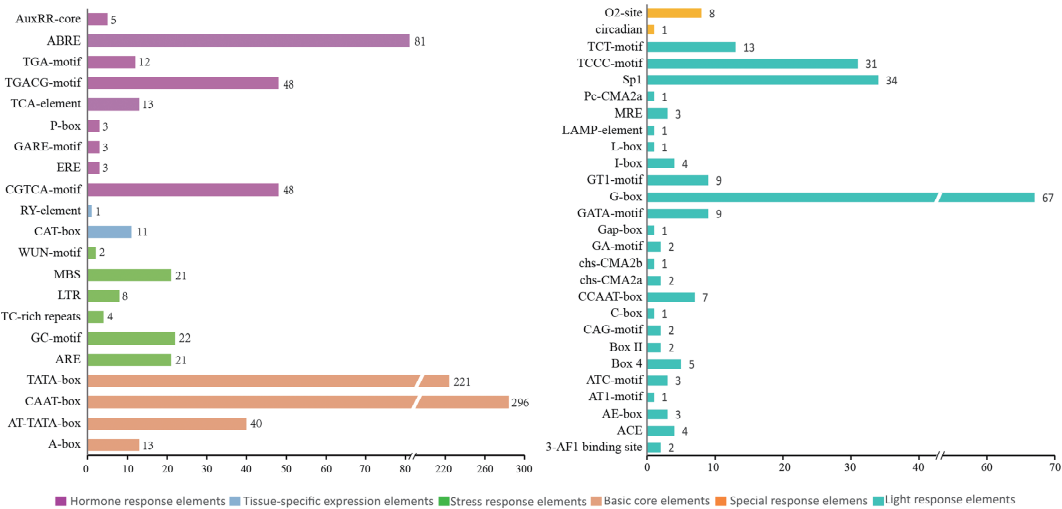


图 5 *CbACT* 顺势作用元件统计分析
Fig. 5 Statistical analysis of *CbACT* cis-elements components

3.7 不同组织部位表达谱分析

为了解不同 Actin 基因在轮藻不同组织中的表达情况,本研究基于布氏轮藻 RNA-Seq 转录组数据,对布氏轮藻不同组织的 Actin 基因进行了表达量分析(图 6). 大部分基因的表达量在各组织中表达量较小,*CbACT*4、*CbACT*10、*CbACT*14 三个基因的表达量在四个组织中表达量较高,表明这些基因对于调控轮藻植物的生长发育发挥了较大的作用.*CbACT*5 在合子、藏精器、藏卵器三个有性生殖器官中表达量较高,说明该基因可能主要影响了生殖器官的发育过程. 另外由片段复制得到的 *CbACT*4 和 *CbACT*3 具有相似的表达模式,在各组织中表达量相似,表明这两个基因还未发生功能

的分化共同调节不同组织的发育过程.

4 讨论

Actin 基因在调节植物形态建成、细胞运动等方面具有重要作用,本研究根据同源性分析和结构域筛选,在布氏轮藻中共获得 16 个 Actin 基因,对该基因家族的二级结构分析表明,布氏轮藻的 Actin 基因家族主要以无规则卷曲为主,与葡萄的 Actin 二级结构分析结果相似,说明 Actin 基因家族的结构存在一定的保守性^[12]; Actin 的亚细胞定位分析结果显示,布氏轮藻的 Actin 基因除了 *CbACT*13 定位于叶绿体,其他 15 个 Actin 基因均定位于细胞质,这也与该基因家族主要参与细胞骨架的构

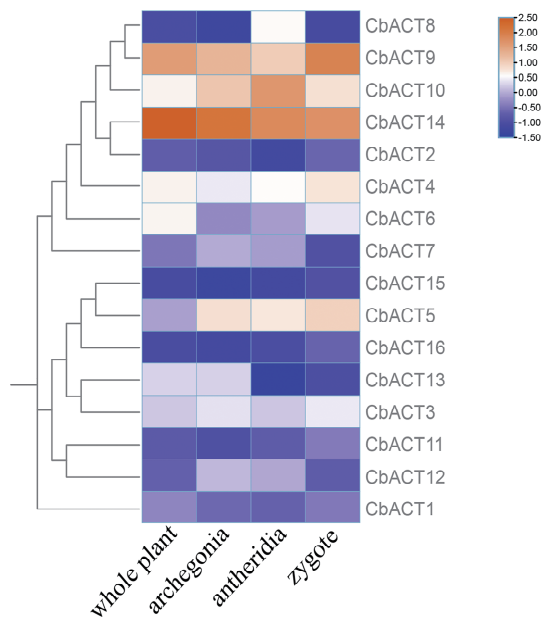


图 6 CbACT 不同组织表达谱
Fig. 6 CbACT expression profile in different tissues

成、细胞中物质运输的功能分析结果相一致^[13]. 拟南芥 Actin7 参与了细胞分裂时叶绿体的移动, 因此 CbACT13 可能也参与了叶绿体相关的生命活动^[14]. 系统发育分析结果显示, 轮藻的 Actin 基因家族可以分为较为结构保守的类型 I 和结构变化较大的类型 II 两个分支. 这也与 Wu 等^[15]的研究结果类似, 在藻类中 Actin 基因家族至少可以分为两个分支, 其中一个分支序列较为保守, 而另外一个分支序列则存在较大的差异. 除了典型的 Actin 结构域之外, 布氏轮藻 Actin 基因还有 F-box-like、PRK-13357、RT-like 结构域. F-box like 蛋白参与调控蛋白降解、信号转导、逆境胁迫等生物学过程^[16]. RT_like 广泛存在于植物基因组中, 在一定条件下可以发生转座, 从而调控靶向基因的失活、突变等, 使得不同基因的表达调控更具有多样性^[17]. 更加复杂的结构域的存在使得轮藻植物的 Actin 基因家族的功能更加多样化, 从而更好地调节植物的环境适应性; 保守基序分析表明, 基序 3、6、7 存在于所有基因家族中, 类型 I 相比与类型 II 共有保守基序更多, 这些差异的基序可作为两个亚家族之间分类的依据; 基因复制是基因家族发生扩增的主要方式, 布氏轮藻基因组研究结果表明布氏轮藻未发生过全基因组加倍事件, 因此基因家族的扩增方式可能主要来自于片段复制^[18]. 但在布氏轮藻中 Actin 基因家族只有一对基因来自于片段复制, 推测可能部分基因在植物逐渐进化过程中由于基因重排、基因转座、基因丢失等原因而导致共

线性基因对减少; 基因的表达需要各种转录因子与启动子不同区域结合, 从而调控基因适应不同环境的变化, 因此启动子顺势作用元件的分析对于了解不同基因的结构、功能分析具有重要意义. 对布氏轮藻的启动子顺势作用元件分析结果表明布氏轮藻 Actin 基因家族启动子区域除了基本启动子元件(CAAT-box、TATA-box、A-box 等)外广泛存在光响应(G-box、TCCC-motif、Sp1 等)、激素调控(AuxRR-core、ABRE、TGACG-motif 等)、生物和非生物胁迫等元件(ARE、LTR、GC-motif 等), 说明 Actin 作为植物中重要的基因家族对于布氏轮藻环境适应、生长发育的调控、植物昼夜节律等发挥了重要作用; 轮藻与其他绿藻门植物相比, 出现了组织的分化, 具有雌雄生殖器官、假根、小枝等, 不同基因通过组织特异型表达调控不同组织的分裂分化. 通过分析不同组织的表达谱表明, 在布氏轮藻中 Actin 基因家族的功能发生了分化, 不同家族成员在不同组织中表达量存在偏好性, 有三个基因在不同组织中明显高于其他组织, 推测这几个基因相对于其他家族成员对于轮藻的生长发育更为重要. 另外, 对于来自片段复制的基因对表达谱趋于一致, 说明该基因对可能还未发生功能分化, 共同参与了植物的生长发育过程. 与拟南芥的 Actin 表达谱相比, 在轮藻中 Actin 并未明显的分为生殖型和营养型两个类型, 但有少数几个 Actin 基因在生殖器官和营养器官的表达出现了较为明显的差异, 因此可能在低等的藻类植物中也存在两种类型的基因, 但是两种类型的基因在序列相似性上尚未存在明显的差异, 所以推测被子植物出现的两种类型的 Actin 基因是在跟随植物进化过程中由古老的 Actin 基因逐渐发生变异从而最终分化形成了生殖型和营养型的 Actin 亚家族.

目前在植物 Actin 的研究主要集中在拟南芥、豌豆、棉花等, 但是在其他物种特别是在藻类植物中研究较少. 因此 Actin 基因对轮藻及其他藻类的生长发育、形态建成、胁迫响应等功能的发挥及其内在的分子机制还需要进一步的深入研究. 本研究从布氏轮藻全基因组中鉴定 16 个 Actin 基因家族, 全面分析了 Actin 基因家族的蛋白理化特性、系统发育关系、基因结构、组织表达模式等, 结果表明 Actin 基因家族广泛参与了轮藻植物的生长发育、胁迫响应等生物学过程, 研究结果为 Actin 基因家族在轮藻科中的系统发育研究及对轮藻生长发育的具体功能研究提供了一定的参考价值.

参考文献:

- [1] Zhu L C, Zhang Y, Hu Y J, *et al.* Dynamic actin gene family evolution in primates [J]. Biomed Res Int, 2013, 2013: 630803.
- [2] 刘曦, 张少斌, 汪澈. 植物肌动蛋白功能的研究进展 [J]. 生物技术通报, 2010(3): 13.
- [3] Meagher R B, McKinney E C, Kandasamy M K. Isovariant dynamics expand and buffer the responses of complex systems: The diverse plant actin gene family [J]. Plant Cell, 1999, 11: 995.
- [4] Kandasamy M K, McKinney E C, Roy E, *et al.* Plant vegetative and animal cytoplasmic actins share functional competence for spatial development with protists [J]. Plant Cell, 2012, 24: 2041.
- [5] Buschmann H. Into another dimension: how streptophyte algae gained morphological complexity [J]. J Exp Bot, 2020, 71: 3279.
- [6] 周旭丹. 轮藻科(Characeae)三个属无丝分裂的研究 [D]. 成都: 四川大学, 2007.
- [7] Chen C J, Chen H, Zhang Y, *et al.* TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological Data [J]. Mol Plant, 2020, 13: 1194.
- [8] Katoh K, Standley D M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability [J]. Mol Biol Evol, 2013, 30: 772.
- [9] Zhang D, Gao F L, Jakovlic I, *et al.* PhyloSuite: an integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies [J]. Mol Ecol Resour, 2020, 20: 348.
- [10] Nguyen L T, Schmidt H A, von Haeseler A, *et al.* IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating Maximum-Likelihood phylogenies [J]. Mol Biol Evol, 2015, 32: 268.
- [11] Wang Y P, Tang H B, DeBarry J D, *et al.* MCS-canX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity [J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40: e49.
- [12] 崔力文, 郑婷, 张克坤, 等. 葡萄 Actin 基因家族的鉴定及进化和表达分析 [J]. 植物资源与环境学报, 2017, 26: 1.
- [13] 陈颖, 王刚, 赵俊霞. 高等植物体内的肌动蛋白 [J]. 生物学通报, 2003, 38: 13.
- [14] McDowell J M, An Y Q, Huang S R, *et al.* The arabidopsis ACT7 actin gene is expressed in rapidly developing tissues and responds to several external stimuli [J]. Plant Physiol, 1996, 111: 699.
- [15] Wu M, Comeron J M, Yoon H S, *et al.* Unexpected dynamic gene family evolution in algal actins [J]. Mol Biol Evol, 2009, 26: 249.
- [16] Yu H Z, Jiang M D, Xing B C, *et al.* Systematic analysis of kelch repeat F-box (KFB) protein family and identification of phenolic acid regulation members in *Salvia miltiorrhiza* bunge [J]. Genes (Basel), 2020, 11: 557.
- [17] Seberg O, Petersen G. A unified classification system for eukaryotic transposable elements should reflect their phylogeny [J]. Nat Rev Genet, 2009, 10: 276.
- [18] Nishiyama T, Sakayama H, de Vries J, *et al.* The chara genome: secondary complexity and implications for plant terrestrialization [J]. Cell, 2018, 174: 448.

引用本文格式:

中文: 胡莎莎, 张冬群, 张苡芃, 等. 布氏轮藻 Actin 基因家族的全基因组鉴定及表达分析 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2022, 59: 046003.

英文: Hu S S, Zhang D Q, Zhang Y P, *et al.* Wholegenome identification and expression analysis of Actin gene family in *Chara braunii* [J]. J Sichuan Univ: Nat Sci Ed, 2022, 59: 046003.