

普通菜豆蛋白质组学研究进展

肖靖¹, 李斌², 石晓华¹, 鄂成林¹, 管洪波¹, 王喜山¹, 凤桐^{1*}

(1. 吉林省农业科学院, 长春 130033; 2. 吉林大学植物科学学院, 长春 130062)

摘要:随着质谱技术和生物信息学的快速发展, 作为后基因组时代生命科学技术研究的里程碑和核心内容的蛋白质组学技术在园艺植物研究中的诸多方面应用日益增多。本文综述了蛋白质组学在普通菜豆生物胁迫、非生物胁迫以及种质资源多样性等方面的研究进展, 并指出了蛋白质组学在普通菜豆全基因组测序工作完成的契机下所面临的挑战和发展前景。

关键词:园艺植物; 后基因组时代; 菜豆; 蛋白质组学; 全基因组测序

中图分类号: S643.1

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2016)04-0090-04

Research Progress on Proteomics of Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.)

XIAO Jing¹, LI Bin², SHI Xiaohua¹, E Chenglin¹, GUAN Hongbo¹, WANG Xishan¹, FENG Tong^{1*}

(1. Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033; 2. College of Plant Science, Jilin University, Changchun 130062, China)

Abstract: With the rapid development of mass spectrometry and bioinformatics, proteomics technology could be used to understand the mechanism that controls many processes in horticultural plants. The proteome studies of biotic stress, abiotic stress, germplasm resources and diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) were briefly introduced in the paper. The facing challenges and prospects of proteomics in the common bean in future were also pointed out.

Key words: Horticultural crops; Post-genome era; Common beans; Proteomics; Whole genome sequencing

普通菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.) 又称芸豆、四季豆, 属豆科菜豆属菜豆种植物, 原产中南美洲, 在世界范围内广泛栽培^[1]。普通菜豆 15 世纪经欧洲引入中国, 在中国已有 500 多年的栽培历史^[2-3]。普通菜豆由于其营养均衡、高蛋白、低脂肪, 并含有大量的碳水化合物以及富含铁和锌等矿质元素, 深受人们的喜爱^[4-5]。近年来, 由于对普通菜豆的人体保健方面的研究得以深入, 再加上其作为豆科植物的固氮功能对农业的可持续发展的至关重要性, 研究越来越引起人们的重视^[6-7]。

第二代基因组测序技术取得的重大突破, 对园艺作物改良产生了重大影响。近年来, 科学家们陆续完成了白菜、黄瓜、番茄、甜瓜和西瓜等一

系列重要园艺作物的基因组测序。墨西哥生物多样性基因组学国家实验室的科学家们通过与国际科研团队的共同努力, 已完成对菜豆的基因组测序, 确定了 26 500 种菜豆基因, 明确了一些基因决定着菜豆的抵御病害能力, 抗旱性、盐耐受度、大气中的氮沉淀、生殖细胞构成以及种子质量等问题^[8]。这些数据有利于通过分子标注的方法加快选种进程, 以选育出品种更好的菜豆以及其他豆类。同时, 随着高密度遗传图谱的构建以及高通量蛋白质组学的应用, 大规模开发和利用普通菜豆特异性分子标记将成为可能^[8-10]。

作为后基因组时代生命科学研究的核心内容之一的蛋白质组学, 在园艺作物上得以广泛的应用^[11-13]。近年来, 蛋白质组学也在菜豆遗传多样性^[14-18]、干旱胁迫^[19]、冷胁迫^[20]等方面得以应用, 为了顺应全球气候的变化, 研究者们应加强生物和非生物胁迫条件下菜豆的品质及产量方面的研究, 加快菜豆种子的改良进程, 创造出新的菜豆品种, 更好地抵御当前种植中遇到的干旱和低温

收稿日期: 2016-03-05

基金项目: 中国东北科技农业创新中心-博士后启动基金(2013-2015); 吉林省人事厅-留学人员择优资助(3140101)

作者简介: 肖靖(1977-), 女, 副研究员, 博士, 主要从事菜豆新品种选育及蔬菜种质资源创新研究。

通讯作者: 凤桐, 男, 研究员, E-mail: ftsz2225@163.com

伤害等问题^[21],以满足消费者对普通菜豆日益增长的消费需求。

总之,蛋白质组学可作为新时期,特别是普通菜豆全基因组测序完成后,基因注释日益完善的情况下,可为菜豆多方面的研究提供新的研究思路。因此,本文就近年来蛋白质组学在普通菜豆生物胁迫、非生物胁迫及种质遗传多样性等方面的研究进展进行综述,旨在促进蛋白质组学在普通菜豆研究上的应用。

1 蛋白质组学在菜豆上的应用

1.1 生物胁迫

虫害、病菌等生物胁迫对菜豆的栽培生产管理和商品品质的影响很大,因此,筛选具有稳定抗性的菜豆种质资源,揭示普通菜豆抗病机理,发掘并利用优异的抗病基因,改良普通菜豆抗病性,对提高菜豆生产的经济效益具有重要的理论和现实意义。

在一些病害发生条件下,植物有两种主动防御机制,一种是广谱的,最基本的抵御机制,另一种是基于R基因的防御机制。Lee等通过高通量的液相色谱-串联质谱方法,对比锈菌感染后敏感和高抗的菜豆植株叶片蛋白质水平变化,发现一些基础的防御蛋白由于真菌的感染而被削弱,而R基因通过修复失效的防御蛋白参与到基本防御系统当中,进一步增强了菜豆的对锈菌防御。因而,这些特定蛋白的富集以及其同系物的减少表明植物细胞在病原体感染的情况下,存在着抵御、适应和恢复的动态平衡的机制^[22]。普通菜豆与细菌早期共生方面的蛋白质组学研究中,在普通菜豆根系被细菌感染后,29个植物蛋白和3个细菌蛋白参与到早期的共生,29个植物蛋白中,19个上调蛋白主要涉及蛋白质合成、能量转化和蛋白质降解等,10个下调蛋白主要和代谢相关。结果表明,在普通菜豆与细菌共生的早期阶段,其防御机制与蛋白酶所调节的伴侣蛋白和蛋白降解有关^[23]。

1.2 非生物胁迫

干旱、洪涝、盐碱、矿物质缺乏等非生物胁迫是影响作物产量和品质的最主要因素,因而其研究也具战略性。柴团耀等早期研究就发现菜豆富含脯氨酸蛋白质基因在生物和非生物胁迫下高表达,可能参与到菜豆的抗病防卫反应过程中^[24]。

蛋白质组学研究方面,低温胁迫条件下,普通菜豆根系蛋白发生多样性的变化,具体体现在持

续低温和短暂低温处理,其蛋白变化模式不同。在持续低温发芽过程中,参与能量转化、小胞体运输、次生代谢等蛋白表现有上调趋势。在接下来的恢复过程中,钙依存性信号传导、次生代谢以及促进细胞分裂等蛋白表达量有所提高。而在短期低温处理条件下、DNA修复、RNA翻译转录蛋白发生变化^[20]。在耐干旱和干旱敏感型普通菜豆的差异蛋白质组学研究为普通菜豆抗旱育种提供了大量的标记蛋白^[19]。其中58个蛋白在丰度上显著发生变化,主要涉及能量代谢、光合作用、蛋白质合成与分解等蛋白,进一步加深普通菜豆对干旱胁迫应答机制的了解。渗透胁迫方面,菜豆根尖的22个蛋白发生变化,其主要涉及碳水化合物和氨基酸新陈代谢方面。磷酸化蛋白质组研究进一步显示,其定位于细胞壁上的脱水蛋白加强了蛋白质的磷酸化。因而,杨忠宝等提出脱水蛋白在渗透胁迫条件下参与蛋白质磷酸化过程,减少细胞壁的物理伤害,以维持细胞壁的可塑性^[25]。Torres等使用蛋白质组学技术初步从菜豆叶片中筛选出了疾病相关蛋白(A novel pathogenesis-related protein 2)可作为臭氧胁迫的标记^[26],证明了相关蛋白质技术可作为相应非生物胁迫育种的一种标记在普通菜豆上应用。

1.3 种质资源多样性

近年来,与其他作物育种一样,为调查研究其遗传多样性,植物的形态学调查、种子蛋白质酶、随机扩增多态性DNA、叶绿体DNA和微卫星标记等技术也在菜豆野生种质资源使用和创新及新型栽培品种培育中得以应用。随着蛋白质组学的发展,也推进了菜豆种质资源研究进展。

普通菜豆的蛋白质二次电泳表明贮藏蛋白、碳水化合物新陈代谢、生长发育蛋白、相关通道蛋白和防御和胁迫应答反应蛋白等在菜豆种子中大量表达,特别是植物血球凝集素(phytohemagglutinin)、云扁豆蛋白(phaseolin)和植物(种子)血凝素相关的 α -amylase抑制剂^[14]。López-Pedrouso等研究证明了菜豆种子贮藏蛋白磷酸化及在萌发过程中的磷酸化依赖性降解,因而可用于监测菜豆种子从休眠到萌发的过程^[27]。墨西哥野生菜豆和普通菜豆中提取蛋白质组分析结果显示蛋白质组学技术可很好地应用在不同菜豆品种的蛋白成分分析上,为菜豆育种在蛋白质组学方面打开了思路^[17]。在此基础上,云扁豆蛋白(phaseolin)被成功应用于18个普通菜豆和野生菜豆种子中蛋白养分和遗传多样性的标记物。这些研究进一

步证实,基于蛋白质组学技术的标记方法可为普通菜豆种质资源筛选和遗传改良做出不可估量的贡献^[27]。Mensack 等成功结合转录组学、蛋白质组学和代谢组学进行菜豆种质资源遗传多样性分析^[16],进一步的研究可建立对农艺性状和营养性状快速鉴定及遗传多样性分析的快速、低成本和高准确率体系。菜豆种子贮藏蛋白缺乏的蛋白质组学结果揭示了富硫蛋白、淀粉及棉子糖代谢酶呈上调趋势,而代谢分泌相关蛋白呈下调趋势,因而,此类研究可为菜豆的营养品质的研究提供多效性的表型信息^[15]。

2 问题与展望

近年来,蛋白质组学技术已在模式植物及其他大宗作物的生物胁迫和非生物胁迫研究上得以广泛应用,主要表现在亚细胞器蛋白质组学分析上。但在现有的菜豆蛋白质组学研究上还鲜有报道,因而,以菜豆全基因组测序完成为契机,开展菜豆亚细胞器蛋白质组学研究将会更加有效地推进菜豆的生物胁迫和非生物胁迫研究。

生物学特性调查是种质资源研究的一种常规方法。在菜豆的农艺性状中,分为矮生型、半蔓型和蔓生型3种类型;按生育期又可分为早熟型、中熟型和晚熟型3种;按种荚形状可分为圆棍形、宽刀形和扁条形3类^[28-29]。但现有菜豆蛋白质组学研究中,缺少与其生物学特性相关的研究,而这些相关的生物学调查是种质资源研究的最基础研究。

除此之外,蛋白质组学技术也在当前研究热点一生物阶段依存性的营养成分研究、生物胁迫和非生物胁迫研究上得以应用。菜豆采后的营养性、耐低温性、抗病性至关重要,蛋白质组学技术可对相应的生理伤害和抗性机理研究发挥重要作用。

综上所述,在蛋白质组学日益成熟的今天,以菜豆全基因组测序完成为基础,建立菜豆的蛋白质组学数据库,并与代谢组学、转录组学和基因组学有机地结合,将为推动菜豆的种质资源利用、新品种选育等工作做出突出的贡献。

参考文献:

[1] Anderson W R. An integrated system of classification of flowering plants[J]. American Journal of Kidney Diseases the Official Journal of the National Kidney Foundation, 1982, 34(2): 268-270.

[2] 龙静宜,林黎奋,侯修身,等.食用豆类作物[M].北京:科学

出版社,1989:209-222.

- [3] 郑卓杰.中国食用豆类学[M].北京:中国农业出版社,1997:222-249.
- [4] 刘庞源,何伟明.优异菜豆种质资源特征评价及筛选[J].安徽农业科学,2008(2):493,604.
- [5] Pinheiro C, Baeta J P, Pereira M A, et al. Diversity of grain mineral composition of *Phaseolus vulgaris* L. germplasm[J]. Food Composition and Analysis, 2010(23): 319 - 325.
- [6] Liu Y, Wu L, Baddeley J A, et al. Models of Biological Nitrogen Fixation of Legumes[J]. Sustainable Agriculture Volume 2. Springer Netherlands, 2011, 2(31): 155-172.
- [7] Imran H, Asif A, Tariq M, et al. Nutritional and Health Perspectives of Beans (*Phaseolus vulgaris* L.): An Overview[J]. Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 2014, 54(5): 580-592.
- [8] Schmutz J, McClean P E, Mamidi S, et al. A reference genome for common bean and genome-wide analysis of dual domestications[J]. Nature Genetics, 2014, 46(7): 707-713.
- [9] Yin F, Pajak A, Chapman R, et al. Analysis of common bean expressed sequence tags identifies sulfur metabolic pathways active in seed and sulfur-rich proteins highly expressed in the absence of phaseolin and major lectins[J]. BMC Genomics, 2011, 12(22): 268.
- [10] Moghaddam S M, Song Q, Mamidi S, et al. Developing market class specific In Del markers from next generation sequence data in *Phaseolus vulgaris* L. [J]. Frontiers in Plant Science, 2014, 5(3): 185.
- [11] Granier F. Extraction of plant proteins for two-dimensional electrophoresis. [J]. Electrophoresis, 1988, 9(11): 712-718.
- [12] 阮松林,马华升,王世恒,等.植物蛋白质组学研究进展—I.蛋白质组关键技术[J].遗传,2006,28(11):1472-1486.
- [13] 张鹏,朱育强,陈新娟,等.差异蛋白质组学技术及其在园艺植物中的应用[J].中国农学通报,2011,27(4):212-218.
- [14] Fuente M D L, Borrajo A, Bermúdez J, et al. 2-DE-based proteomic analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds[J]. Journal of Proteomics, 2010, 74(2):262-267.
- [15] Marsolais F, Pajak A, Yin F, et al. Proteomic analysis of common bean seed with storage protein deficiency reveals up-regulation of sulfur-rich proteins and starch and raffinose metabolic enzymes, and down-regulation of the secretory pathway[J]. Journal of Proteomics, 2010, 73(8): 1587-1600.
- [16] Mensack M M, Fitzgerald V K, Ryan E P, et al. Evaluation of diversity among common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) from two centers of domestication using 'omics' technologies[J]. BMC Genomics, 2010(2): 686.
- [17] Natarajan S S, Pastor-Corrales M A, Khan F H, et al. Proteomic analysis of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry[J]. Journal of Basic and Applied Sciences, 2013(9): 424.
- [18] López-Pedrouso M, Alonso J, Zapata C. Evidence for phosphorylation of the major seed storage protein of the common bean and its phosphorylation-dependent degradation during germination[J]. Plant Molecular Biology, 2014. 84(4-5):415-428.

- [19] Zadražnik T, Hollung K, Egge-Jacobsen W, et al. Differential proteomic analysis of drought stress response in leaves of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) [J]. J Proteomics, 2013, 78(1): 254–272.
- [20] Badowiec A, Weidner S. Proteomic changes in the roots of germinating *Phaseolus vulgaris* seeds in response to chilling stress and post-stress recovery[J]. Journal of Plant Physiology, 2014 (6): 389–398.
- [21] Yoshimura K, Masuda A, Kuwano M, et al. Programmed proteome response for drought avoidance/tolerance in the root of a C3 xerophyte(wild watermelon) under water deficits[J]. Plant and Cell Physiology, 2008, 49(2): 226–241.
- [22] Lee J, Feng J, Campbell K B, et al. Quantitative proteomic analysis of bean plants infected by avirulent and avirulent obligate rust fungus[J]. Molecular and Cellular Proteomics, 2009(8): 19–31.
- [23] Salavati A, Taleei A, Bushehri A A, et al. Analysis of the proteome of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) roots after inoculation with *Rhizobium etli*[J]. Protein and Peptide Letters, 2012, 19(8): 880–889.
- [24] 柴团耀, 张玉秀. 菜豆富含脯氨酸蛋白质基因在生物和非生物胁迫下的表达[J]. 植物学报, 1999, 41(1): 111–113.
- [25] Yang Z B, Eticha D, Fühns H, et al. Proteomic and phosphoproteomic analysis of polyethyleneglycol-induced osmotic stress in root tips of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) [J]. Journal of Experimental Botany, 2013, 64(18): 5569–5586.
- [26] Torres N L, Cho K, Shibato J, et al. Gel-based proteomics reveals potential novel protein markers of ozone stress in leaves of cultivated bean and maize species of Panama[J]. Electrophoresis, 2007, 28(23): 4369–4381.
- [27] López-Pedrouso M, Bernal J, Franco D, et al. Evaluating two-dimensional electrophoresis profiles of the protein phaseolin as markers of genetic differentiation and seed protein quality in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(29): 7200–7208.
- [28] 胡家篷, 程须珍, 王佩芝. 中国食用豆类品种资源目录第三集[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 142–209, 398–437.
- [29] 郑卓杰, 胡家篷. 中国食用豆类品种资源目录. 第二集[M]. 北京: 农业出版社, 1990: 258–269.

(责任编辑: 王 昱)

欢迎订阅《辽宁农业科学》

《辽宁农业科学》是辽宁省农业科学院与辽宁省农学会共同主办的综合性农业科技期刊, 面向国内外公开发行。主要报道农业科研进展和成果, 宣传农业新品种、新技术、新方法, 传播新的学术思想、观点和科技知识。刊号: ISSN 1002-1728 CN 21-1111/S 邮发代号: 8-21 双月刊 双月 18 日出版 全年: 36.00 元。单价: 6.00 元

地 址: 沈阳市东陵路 84 号《辽宁农业科学》编辑部 邮 编: 110161

电 话: 024-31029927 E-mail: Lnnny@Chinajournal.net.cn