

番茄 ZIP 基因家族全基因组鉴定及表达模式分析

巩元勇, 赵丽华, 闫 飞

(攀枝花学院生物与化学工程学院, 四川 攀枝花 617000)

摘要: ZIP 蛋白是生物体一类非常重要的阳离子通道蛋白, 在维持机体新陈代谢和生长发育过程中阳离子的动态平衡中发挥重要生理功能。为明确番茄 *SZIP* 基因家族的序列特性以及不同组织和果实不同发育时期的表达情况, 利用系统的生物信息学方法进行分析, 从番茄基因组鉴定出 *SZIP* 基因家族成员, 并对其序列基本特性、染色体分布、基因结构、跨膜结构域及组织表达情况进行分析。结果表明, 番茄 *SZIP* 基因家族共包含 15 个成员。染色体分布显示, *SZIP* 基因不均匀地分布在 7 条染色体上, 其中 2 号染色体上分布的基因最多。*SZIP* 基因间的编码区序列长度、CDS 序列长度和编码蛋白序列长度的跨度差异较大。*SZIP* 蛋白有 9 个属于酸性蛋白、6 个属于碱性蛋白, 基本上都是亲水性的稳定蛋白。基因结构分析表明, 有 9 个 *SZIP* 基因是 3 个外显子 2 个内含子的模式。有 5 个和 4 个 *SZIP* 蛋白分别具有 8 个和 9 个跨膜结构域, 有 13 个 *SZIP* 蛋白具有膜内侧的可变区, 有 7 个 *SZIP* 蛋白的可变区具有组氨酸富集结构。系统进化树分析表明, 番茄的 *SZIP* 蛋白同拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的 AtZIP 蛋白进化关系最近。组织表达模式研究表明, 有 7 个 *SZIP* 基因在所有组织中都有表达, 有 12 个 *SZIP* 基因在根部表达; 从果实的表达来看, 有 11 个 *SZIP* 基因在果实中有表达, 且在果实不同发育期的表达差异显著。本研究结果为番茄 *SZIP* 基因的克隆及功能研究提供了理论基础, 为通过调控 *SZIP* 基因的表达强化果实中 Zn 和 Fe 的含量提供了理论依据。

关键词: 番茄果实; ZIP 基因; 生物信息学; 表达模式

中图分类号: S562.01

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2023)02-0042-07

Genome-Wide Identification and Expression Analysis of ZIP Gene Family in *Solanum lycopersicum*

GONG Yuanyong, ZHAO Lihua, YAN Fei

(Biological and Chemical Engineering College, Panzhihua University, Panzhihua 617000, China)

Abstract: ZIP protein is a kind of vital cation transporter, which plays an important physiological role in maintaining the cations dynamic equilibrium in the process of metabolism and growth development of organism. This study using the analysis of systematic bioinformatics method to clarify the sequence characteristics of *SZIP* gene family and the expression pattern of those genes in different tissues and fruits at different development stages. The content includes the identification of *SZIP* gene family members from tomato genome, and the analysis of its basic sequence characteristics, chromosome distribution, gene structure, transmembrane domain and tissue specific expression. The results showed that there were 15 members in *SZIP* gene family and those genes were unevenly distributed on 7 chromosomes, among the chromosome 2 with the largest number of *SZIP* genes. The length of coding region, CDS sequence and amino acid sequence among the member of *SZIP* genes have a large span difference. There were 9 acidic proteins and 6 basic proteins in *SZIP*, which were basically hydrophilic stable proteins. Gene structure analysis showed that 9 *SZIP* genes had 3 exons and 2 introns. There were 5 and 4 *SZIP* proteins with 8 and 9 transmembrane domains, respectively. And 13 *SZIP* proteins possessed variable region which located on the inner membrane, and 7 *SZIP* proteins possessed histidine rich domain which distributed in the variable region. Phylogenetic tree analysis indicated that the evolutionary relationship between *SZIP* and AtZIP (*Arabidopsis thaliana* ZIP) was the closest. The study on tissue expression pattern showed that 7 *SZIP* genes expressed in all tissues, and 12 *SZIP*

收稿日期: 2020-04-08

基金项目: 四川省高校重点实验室项目 (GR-2017-E-03, GR-2018-C-01); 金沙江干热河谷生态修复与治理创新研究团队专项经费项目 (035200179)

作者简介: 巩元勇 (1982-), 男, 副教授, 博士, 从事植物分子生物学研究。

genes expressed in the roots. From the perspective of fruit expression, 11 *SIZIP* genes expressed in the fruits, but with significant differences expression in various fruit development stages. This study would provide an theoretical basis on cloning and functional research of *SIZIP* genes, and provide an theoretical foundation on through regulating *SIZIP* gene expression to fortify the Zn and Fe concentration in tomato fruits.

Key words: Tomato fruit; *ZIP* gene; Bioinformatics; Expression pattern

Zn 和 Fe 在植物的代谢和发育过程中具有重要的作用^[1]。Zn 是许多蛋白质的关键结构基序,包括 DNA 结合锌指蛋白、环指蛋白^[2-3]和 LIM(Lin-11, Isl-1 和 Mec-3 基因)结构域蛋白,它们在控制细胞生长、发育和分化等过程中起着至关重要的作用^[4]。Fe 在植物光合作用和呼吸作用过程中起着重要的电子传递作用,但细胞内高浓度的 Fe 可能导致 Fe^{3+}/Fe^{2+} 氧化还原反应的升高并引起损伤^[5]。Zn 和 Fe 的缺乏会延缓植物的生长,影响农作物的产量和质量^[6],但过量 Zn 和 Fe 可能对生物系统造成严重的毒害^[7-8]。因此,植物体已经建立了一套严格的系统来控制 and 平衡对这些金属离子的吸收、利用和储存^[9-10]。因为 Zn 不能通过细胞膜自由扩散,所以需要特定的 Zn 转运蛋白将 Zn 转运到细胞质中^[11-12]。近年来,在植物中发现了许多金属转运蛋白,包括 P_{1B} -ATPase 家族、锌调节转运蛋白(zinc-regulated transporter, ZRT)、铁调节转运蛋白(iron-regulated transporter, IRT)、类似蛋白家族(ZRT, IRT-like protein, ZIP)、自然抵抗相关巨噬细胞蛋白家族(natural resistance-associated macrophage Protein, NRAMP)与阳离子扩散促进剂家族(cation diffusion facilitator, CDF)^[13]。

ZIP 蛋白家族在古细菌、真菌、植物和哺乳动物等生物体中广泛存在,主要功能是参与金属离子的传导和运输^[10]。ZIP 蛋白通过将金属离子传导入细胞质以此来调节细胞内部阳离子的动态平衡^[13]。酵母功能互补研究表明 ZIP 蛋白能够传输多种二价阳离子,包括 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Cd^{2+} ^[14]。ZIP 蛋白一般由 309~476 个氨基酸残基组成,具有 8 个跨膜结构域构成的拓扑结构,在第三和第四跨膜域间有一段位于细胞膜内侧的可变区,可变区包含有组氨酸残基富集的金属离子结合域^[14]。

第一个在高等植物中鉴定出的 ZIP 蛋白是来源于拟南芥的 AtIRT1,最初是通过酵母功能互补证明 AtIRT1 具有转运 Fe^{2+} 的功能^[15],随后的研究证实它是位于拟南芥根表面重要的 Fe 转运蛋白^[16]。全基因组鉴定发现拟南芥 AtZIP 基因家族共有 16 个成员,有 3 个 AtIRT 成员和 13 个 AtZIP 成员^[17]。在拟南芥中超表达 AtIRT3 基因,可以同时

促进地上部 Zn 和根部 Fe 的增加;此外,AtIRT3 能够互补 Zn 和 Fe 吸收双突变酵母,这些都表明 AtIRT3 具有同时转运 Zn 和 Fe 的功能^[18]。在水稻中超表达 *OsIRT1* 基因,能够增加嫩苗、根和成熟籽粒中 Zn 和 Fe 的积累,说明 *OsIRT1* 是 Zn 和 Fe 转运的功能蛋白^[19]。水稻中超表达 *OsZIP4* 和 *OsZIP5* 基因,只显著地增加了水稻根部的 Zn 含量^[20-21]。超表达一个来自野生二粒小麦的 *TdZIP1* 基因,导致了细胞中 Zn 的超量积累^[22]。由此可见,通过转基因的方式促进 ZIP 基因的表达可以增加植物体 Zn 和 Fe 的含量,可以作为农业生产上 Zn 和 Fe 营养强化的手段之一。

番茄(*Solanum. lycopersicum*)是一种重要的园艺作物,也是研究果实发育的模式植物。番茄基因组已经在 2012 年公布^[23],有力地促进了番茄功能基因的研究,但是关于番茄 ZIP 基因的研究报道还很少。本文对番茄全基因组的搜索鉴定出 *SIZIP* 家族基因,并通过生物信息学的方法系统地研究 *SIZIP* 基因的核苷酸序列和氨基酸序列的基本特性,构建 *SIZIP* 蛋白的系统进化树,以及 *SIZIP* 基因在不同组织和番茄果实不同发育时期的表达情况,为克隆 *SIZIP* 基因及深入探索 *SIZIP* 基因的生物学功能奠定理论基础。

1 材料与方 法

1.1 植物 ZIP 基因家族序列的获得

在 Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>)番茄基因组数据库用 Keyword 搜索获得包含 ZIP 结构域的番茄 ZIP 基因家族成员,并下载这些基因的编码区序列、CDS 序列和氨基酸序列。拟南芥、水稻(*Oryza sativa*)和玉米(*Zea mays*)的 ZIP 基因家族成员的氨基酸序列在 aramemnon (<http://aramemnon.botanik.uni-koeln.de/>)网站搜索获得,只下载有研究并发表文章确定功能的 ZIP 序列。

1.2 方法

1.2.1 番茄 ZIP 基因家族基本特性及蛋白功能结构域分析

番茄 ZIP 家族基因的基因座位 ID 信息在 Phytozome 获取,利用 Lasergene 软件中的 Editseq 分析

基因的编码区和 CDS 序列,获得相应的长度信息;利用 ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam/>)在线分析 SIZIP 的分子量、理论等电点、不稳定系数和亲水性指数等信息;用 MapInspect 软件绘制基因在染色体上的分布图;利用 SMART(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)分析 ZIP 功能结构域分布和亚细胞定位,利用 TMHMM(<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/>)分析跨膜结构域及膜内侧可变区^[24]。

1.2.2 番茄 ZIP 结构分析

用 MEGA6.0 软件采用 Neighbor-Joining 法对番茄 ZIP 蛋白序列构建进化树,校验参数 Bootstrap=1 000;采用 GSDS(<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>)^[25]在线绘制番茄 ZIP 基因结构图。

1.2.3 番茄 ZIP 的进化树分析

用 Clustal W 对番茄、拟南芥、水稻和玉米 4 种植物 44 个 ZIP 蛋白序列进行多重比对,使用 MEGA6.0 软件采用 Neighbor-Joining 法对 ZIP 蛋白质序列构建系统进化树,校验参数 Bootstrap=1 000。

1.2.4 番茄 ZIP 基因的组织表达分析

利用番茄表达谱网站 TomExpress (<http://tom-express.toulouse.inra.fr/>)^[26]分析 SIZIP 基因家族在不同组织及番茄果实不同成长阶段的表达情况,选择番茄 Heinz 1706 品种,获取基因表达热图。

2 结果与分析

2.1 番茄 ZIP 基因基本特性及染色体分布情况

从 Phytozome 番茄基因组数据库共鉴定获得

15 条 SIZIP 基因序列,分布在 7 条染色体上(表 1)。SIZIP 基因编码区序列长度在 540~10 318 bp,其中编码区序列长度最长的是 SIZIP15 基因,最短的是 SIZIP2 基因;SIZIP 基因 CDS 序列长度在 462~1 788 bp,其中 CDS 序列长度最长的是 SIZIP3 基因,最短的是 SIZIP1 基因。番茄 ZIP 基因翻译后的多肽氨基酸序列长度在 153~595,分子质量在 16.21~61.83 kD, SIZIP3 基因的氨基酸序列最长、分子质量最大, SIZIP1 基因的氨基酸序列最短、分子质量最小。15 个 SIZIP 蛋白的理论等电点在 5.42~9.30, SIZIP1、SIZIP3、SIZIP4、SIZIP9~SIZIP14 等 9 个蛋白为酸性氨基酸,剩余的 6 个蛋白为碱性氨基酸。分析 SIZIP 蛋白的不稳定系数,只有 SIZIP4 和 SIZIP8 这两个蛋白的不稳定系数超过 40,为不稳定蛋白;其他 13 个 SIZIP 蛋白的不稳定系数均小于 40,为稳定蛋白。亲水性指数表明,有 80% 的 SIZIP 基因编码的蛋白为疏水性蛋白,只有 SIZIP2、SIZIP8 和 SIZIP14 的亲水性指数低于 0.5,为两性蛋白。

番茄的 15 个 SIZIP 基因在 7 条染色体上的分布是不均匀的,第 5、6、8、11 号染色体上各分布了 1 个 SIZIP 基因,第 1 和 7 号染色体上各分布了 3 个 SIZIP 基因,2 号染色体分布的最多,为 5 个 SIZIP 基因(SIZIP4~SIZIP8),在染色体上的具体排列情况见图 1。2 号染色体上 SIZIP5、SIZIP6 和 SIZIP7 三个基因成簇存在,而且这三个基因编码的蛋白质序列相互之间的一致性都在 80% 以上,其中 SIZIP5 和 SIZIP6 蛋白序列的一致性达到了 91.1%;7

表 1 SIZIP 基因家族成员基本信息

基因	基因座位 ID	编码区长度 (bp)	CDS 长度 (bp)	氨基酸长度 (aa)	分子质量 (kD)	理论等电点	不稳定系数	亲水性指数
SIZIP1	Solyc01g008580	556	462	153	16.21	5.42	27.13	0.894
SIZIP2	Solyc01g008590	540	540	179	19.78	8.14	34.13	0.250
SIZIP3	Solyc01g087530	8630	1788	595	61.83	6.90	33.81	0.768
SIZIP4	Solyc02g032100	1918	1044	347	37.12	5.85	41.76	0.569
SIZIP5	Solyc02g069190	2295	1059	352	37.64	8.41	34.87	0.622
SIZIP6	Solyc02g069200	1250	1053	350	37.42	8.12	34.82	0.665
SIZIP7	Solyc02g069210	2626	1068	355	38.32	9.13	30.41	0.564
SIZIP8	Solyc02g081600	2387	1059	352	38.51	8.40	48.76	0.474
SIZIP9	Solyc05g053370	1981	987	328	35.28	6.12	30.78	0.726
SIZIP10	Solyc06g005620	2585	1014	337	36.78	5.80	25.00	0.588
SIZIP11	Solyc07g043200	1800	1029	342	36.52	5.91	29.00	0.547
SIZIP12	Solyc07g043230	2989	1029	342	36.41	6.70	28.07	0.573
SIZIP13	Solyc07g065380	2418	1053	350	37.68	5.75	31.08	0.555
SIZIP14	Solyc08g065190	2952	831	407	43.40	6.30	37.53	0.317
SIZIP15	Solyc11g062020	10318	1224	276	29.39	9.30	37.87	0.694

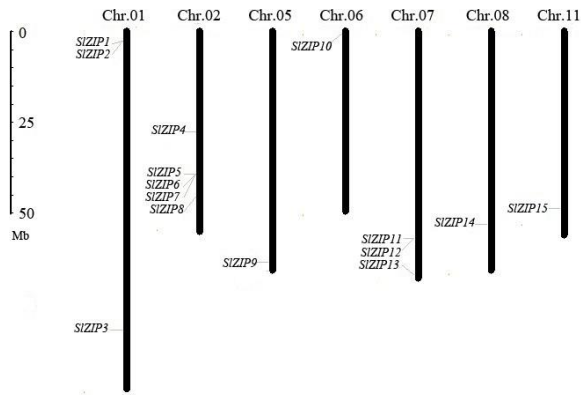


图1 番茄染色体上SIZIP基因的分布

号染色体上SIZIP11和SIZIP12两个基因也是成簇存在,而且这两个基因编码的蛋白质序列的一致性高达85.1%,因此这两组成簇SIZIP基因的存在可能是基因复制加倍造成的。尽管SIZIP1和S-

ZIP2这两个基因在物理位置上距离很近,但是这两个基因编码的蛋白质序列的一致性只有27.8%,所以这两个基因在进化上是独立进行的。

2.2 番茄ZIP蛋白功能结构域分析

用SMART预测分析番茄15个SIZIP蛋白的ZIP功能结构域,由于SIZIP蛋白序列长度存在差异,所以ZIP结构域在氨基酸序列存在的位置和长度也不尽相同,SIZIP1从第1个氨基酸就是ZIP结构域了,而SIZIP3的ZIP结构域从161位氨基酸才开始。番茄有10个SIZIP蛋白(SIZIP4~SIZIP13)的ZIP结构域的长度集中在300个氨基酸左右(293~306),ZIP结构域最短的是SIZIP2蛋白,有125个氨基酸,最长的是SIZIP14蛋白,有348个氨基酸,两者差有213个氨基酸(表2)。

亚细胞定位预测结果表明,所有的SIZIP蛋白

表2 SIZIP蛋白功能结构分析及亚细胞定位预测

蛋白	ZIP结构域位置	跨膜数	可变区位置	组氨酸富集区			亚细胞定位
				个数	序列	位置	
SIZIP1	1~150	3	133~152	-	-	-	质膜
SIZIP2	52~176	4	-	-	-	-	质膜
SIZIP3	161~317	13	413~501	-	-	-	质膜
SIZIP4	39~344	7	141~257	2	HVHTH	161~165	质膜
					HGHAH	168~172	
SIZIP5	45~349	8	145~197	1	HSHHH	174~178	质膜
SIZIP6	45~347	8	145~195	1	HVHSHHH	170~176	质膜
SIZIP7	47~352	8	150~200	1	HFHSHHH	181~187	质膜
SIZIP8	21~325	8	150~255	-	-	-	质膜
SIZIP9	48~347	7	-	-	-	-	质膜
SIZIP10	54~344	9	143~186	-	-	-	质膜
SIZIP11	36~339	9	131~187	1	HTHSHAHAAH	160~170	质膜
SIZIP12	44~339	9	142~187	1	HPHSH	166~170	质膜
SIZIP13	54~346	9	144~188	-	-	-	质膜
SIZIP14	57~404	6	157~315	2	HRHSHSEH	216~224	质膜
					HSHGSHSH	230~238	
SIZIP15	92~262	8	94~119	-	-	-	质膜

都定位在质膜(表2),这同拟南芥、玉米、水稻等大多数植物的ZIP蛋白亚细胞定位一致。此外信号肽预测结果显示,除SIZIP8、SIZIP14和SIZIP15三个蛋白之外,其余12个SIZIP蛋白的C端都包含二十几个氨基酸的信号肽。跨膜结构预测结果显示,番茄15个SIZIP蛋白都是跨膜蛋白,跨膜数从3个到13个不等,其中有8个和9个跨膜域的SIZIP蛋白分别有5个和4个,有7个跨膜域的SIZIP蛋白有2个,有3、4、6、13个跨膜域的SIZIP蛋白都只有1个。在这15个SIZIP跨膜蛋白中,只有

SIZIP2和SIZIP9两个蛋白不存在膜内侧可变区,其他13个SIZIP跨膜蛋白都存在位于膜内侧的可变区;可变区存在长度差异,SIZIP14的膜内侧可变区域最长为159个氨基酸,SIZIP1的膜内侧可变区域最短为20个氨基酸,有7个SIZIP蛋白的可变区域长度在50个氨基酸左右(44~57)。这13个SIZIP蛋白膜内侧可变区出现在哪两个跨膜结构域之间也是不尽相同的,有9个SIZIP蛋白(SIZIP4~SIZIP8,SIZIP10~SIZIP13)的膜内侧可变区位于第四个和第五个跨膜结构域之间,SIZIP14和S-

ZIP15 蛋白的膜内侧可变区位于第三个和第四个跨膜结构域之间, SIZIP1 和 SIZIP3 蛋白的膜内侧可变区分别位于第二个和第三个跨膜结构域和第九个和第十个跨膜结构域之间。研究表明, 植物 ZIP 蛋白可能参与金属离子结合的 His 富集区 (histidine-rich domain, HRD) 就位于膜内侧可变区, HRD 的共有序列是(HX)_n (n=3~6)^[20]。番茄 ZIP 蛋白具有 HRD 的成员只有 7 名, HRD 都位于膜内侧可变区(表 2)。在这 7 名 SIZIP 成员中, SIZIP4 和 SIZIP14 具有 2 个 His 富集区, SIZIP5/6/7/11/12 都只有 1 个 His 富集区, SIZIP11 具有最长的(HX)₆ His 富集区序列(表 2)。

2.3 番茄 ZIP 基因结构分析

从 Phytozome 番茄基因组数据库分别获取 15 个 SIZIP 基因的编码区序列和 CDS 序列, 利用

GSCD 在线分析这 15 个 SIZIP 基因的外显子和内含子个数、长度和分布情况等基因结构信息。由图 2 可知, 有 9 个 SIZIP 基因(SIZIP4~SIZIP8, SIZIP10~SIZIP13)是 3 个外显子和 2 个内含子的结构模式, 其中 SIZIP5~SIZIP7 三个基因聚为一个分支, 进化关系最近; SIZIP4、SIZIP8、SIZIP11、SIZIP12 这四个基因处于一个分支, 其中 SIZIP11 和 SIZIP12 的进化关系最近; SIZIP10 和 SIZIP13 处于一个分支。SIZIP1 和 SIZIP9 处于一个分支, 具有 2 个外显子和 1 个内含子的结构模式。SIZIP14、SIZIP3 和 SIZIP15 三个基因分别有 4、5 和 12 个外显子, SIZIP2 基因没有内含子。由图 2 也不难发现, 具有三个外显子的基因间所对应的外显子长度差异也不是很大。

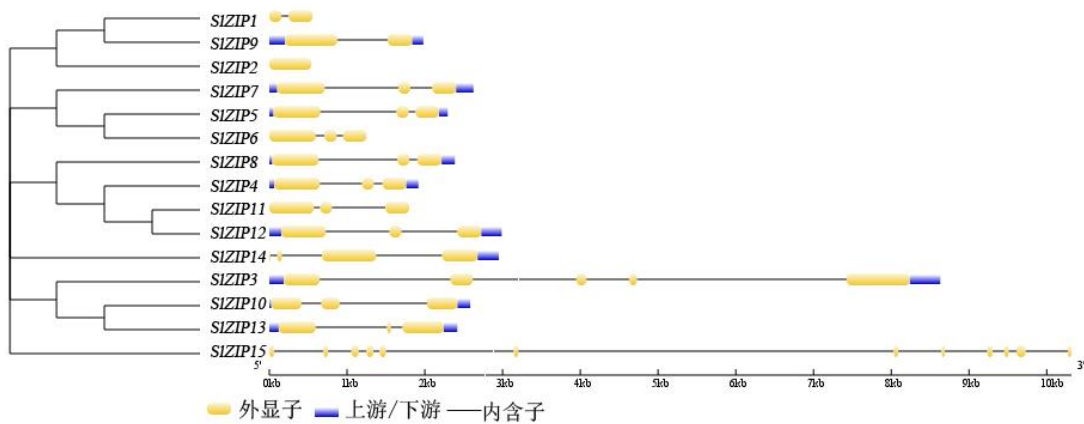


图 2 番茄 ZIP 基因进化树和基因结构

2.4 番茄 ZIP 家族的进化分析

利用 MEGA6 邻接法构建了番茄、拟南芥、水稻和玉米四种植物 44 个 ZIP 蛋白的进化树, 如图 3 所示。总体来看, SIZIP 蛋白同拟南芥的 AtZIP

蛋白在进化关系上比较近, 水稻 OsZIP 蛋白同玉米的 ZmSIZIP 蛋白在进化关系上比较近。SIZIP9 和 AtZIP12、SIZIP5/6/7 和 AtZIP8、SIZIP14 和 AtZIP4/9、SIZIP8 和 AtZIP6、SIZIP10 和 AtZIP2 等因进化关系相近而聚类到各自的分支。SIZIP 蛋白也有同 OsZIP 蛋白进化上比较近的个体, 如 SIZIP15 和 OsZIP14、SIZIP13 和 OsZIP2 等两组就处于各自的分支。进化分析结果表明, SIZIP 蛋白相应的个体同与之相对应的进化关系比较近的其他植物 ZIP 蛋白在分子生理功能上具有相似性。

2.5 番茄 ZIP 基因的表达分析

利用番茄表达谱网站 TomExpress 分析 SIZIP 基因家族在不同组织及番茄果实不同成长阶段的表达情况, 因本研究的基因序列来自番茄 Heinz 1706 品种, 所以在研究基因表达情况的时候也选择了该品种。如图 4 所示, 正常培养条件下, SIZIP4/8/9/12/13/14/15 七个基因在根、叶、花和果实中都有表达, SIZIP7 在除叶之外的其他组织中

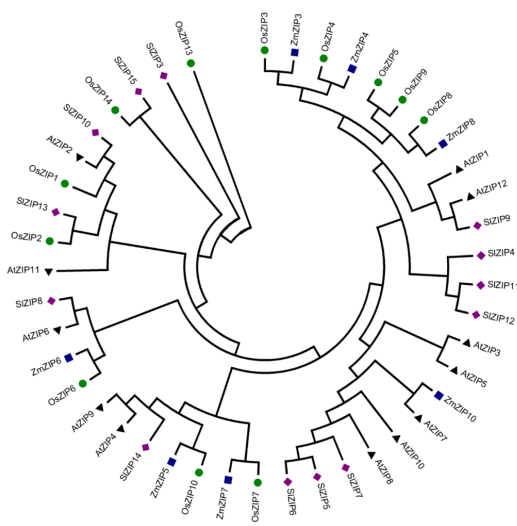


图 3 SIZIP 蛋白的系统进化树

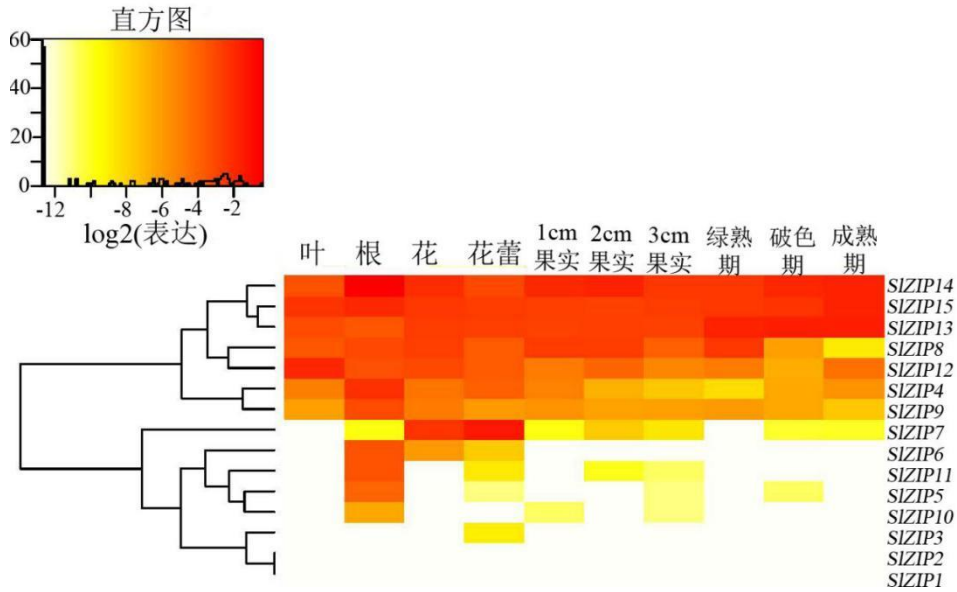


图4 番茄不同组织 *SIZIP* 基因的表达

有表达,且该基因在花中的表达明显高于其他组织;*SIZIP6*在叶和果实中不表达,*SIZIP11*在根、花蕾和幼果中有表达,*SIZIP5*在叶和花中不表达,*SIZIP10*在根和幼果中有表达,*SIZIP3*在花蕾中特异性表达,*SIZIP1/2*在各个组织中没有检测到表达。

分析在根中的表达情况,除 *SIZIP1/2/3* 三个基因之外的所有基因在根中都有表达,12个在根部有表达的基因中,*SIZIP14*在根中表达量最高,*SIZIP7*在根中表达量最低。分析在果实中的表达情况,在果实的不同发育时期,*SIZIP14/12/9/7*表达量基本稳定,*SIZIP14*的表达量一直比较高;*SIZIP10/11*只在幼果中有表达;随着果实发育不断成熟,*SIZIP13/15*在后期表达量最高,*SIZIP8*的表达量逐渐降低,*SIZIP4*先降低后升高。

3 讨论

ZIP 蛋白是生物体一类非常重要的阳离子通道蛋白,在维持机体新陈代谢和生长发育过程中阳离子的动态平衡中发挥重要生理功能。本研究在番茄基因组共鉴定出 15 个 *SIZIP* 基因,它们不均匀地分布在 7 条染色体上,其中 2 号染色体上分布的基因最多,占全部基因的 1/3;有两个基因簇可能因基因的复制加倍生成,共涉及 5 个基因。陆地棉基因组共鉴定出 45 个 *GhZIP* 基因,是当前已知的最大的 *ZIP* 基因家族,这可能同陆地棉属于异源四倍体有关,但是在染色体的分布来看,也只有四个基因簇,且其他基因的序列一致性也不是很高^[27]。可见植物 *ZIP* 基因在进化中的复制事件相对较少,偏向于基因单独进化。

SIZIP 基因结构基本上以 3 个外显子 2 个内含子的模式为主,这同陆地棉的 *GhZIP* 基因类似,陆地棉 45 个 *GhZIP* 基因有 19 个是 3 个外显子 2 个内含子的模式^[27],由此推测植物 *ZIP* 基因结构可能普遍是这种外显子-内含子模式。具有相同基因结构的 *SIZIP* 基因,在进化关系上也更近,图 2 已经很明显地体现出来这一点。*SIZIP* 基因家族成员间编码区长度最大差距超过 9 000 bp,这么大的长度差主要是由于内含子的长度差异造成的。*SIZIP15* 基因具有 12 个外显子,它也是所有成员中编码区最长的基因,虽然外显子个数多,但是普遍都不长,所以它的 CDS 长度在所有成员中并不是最长。研究表明,用 TopPred 预测的 *ZIP* 蛋白家族基本由 8 个跨膜结构域组成,在第三和第四个跨膜结构域之间的细胞膜内存在一段可变区,可变区存在的组氨酸富集区可能参与金属离子在转运时的结合^[28]。本研究用 TMHMM 预测 *SIZIP* 家族的跨膜结构域情况,具有 8 个跨膜结构域的只有 5 个 *SIZIP* 蛋白;15 个 *SIZIP* 蛋白,既具有可变区,又具有 HRD 的只有 7 个成员;这 7 个成员有 6 个 *SIZIP* 的可变区位于第四和第五个跨膜结构域之间,只有 *SIZIP14* 的可变区在第 3 和第 4 个跨膜结构域之间。结合 *SIZIP* 基因的组织特异性表达数据,这 7 个氨基酸序列具有 HRD 的 *SIZIP* 基因在不同的组织都有较高的表达,且 *SIZIP4*、*SIZIP5*、*SIZIP6*、*SIZIP11* 和 *SIZIP14* 这 5 个基因在根中的表达显著高于其他组织,表明这些基因可能在根部的金属离子吸收转运过程中发挥了重要作用。

很多研究都证实,不管是拟南芥^[29]、水稻^[30],

还是大麦^[31], *ZIP* 基因主要在根中表达, 并且很多基因受到环境中 Zn 或其他金属元素缺乏的诱导表达^[32]。本研究的组织表达鉴定结果也正说明了这一特性, 15 个 *SIZIP* 基因有 13 个在根部都有表达, 且表达量都比较高。 *SIZIP1~SIZIP3* 三个基因尽管在正常生长条件下没有发现在根部表达, 但是这三个基因是否受 Zn 缺乏的诱导表达, 还有待实验进一步验证。从在果实的表达情况来看, 有 11 个 *SIZIP* 基因在果实中有表达, 尽管在果实不同发育期的表达存在差异, 也可以表明 *SIZIP* 基因参与了果实 Zn 和 Fe 的积累或不同组织间的再分配, 为通过调控 *SIZIP* 基因的表达强化果实中 Zn 和 Fe 的含量提供了理论依据。

参考文献:

- [1] Haydon M J, Cobbett C S. Transporters of ligands for essential metal ions in plants[J]. *New Phytologist*, 2007, 174(3): 499-506.
- [2] Klug A, Schwabe J W. Protein motifs 5. Zinc fingers[J]. *Faseb Journal*, 1995, 9(8): 597-604.
- [3] Vallee B L, Auld D S. Zinc coordination, function, and structure of zinc enzymes and other proteins[J]. *Biochemistry*, 1990, 29(24): 5647-5659.
- [4] Vallee B L, Falchuk K H. The biochemical basis of zinc physiology[J]. *Physiological Reviews*, 1993, 73(1): 79-118.
- [5] Briat J F, Lebrun M. Plant responses to metal toxicity[J]. *Comptes Rendus des Séances de l Académie des Sciences-Série III*, 1999, 322(1): 43-54.
- [6] Casterline J E, Allen L H, Ruel M T. Vitamin B-12 deficiency is very prevalent in lactating Guatemalan women and their infants at three months postpartum[J]. *The Journal of Nutrition*, 1997, 127(10): 1966-1972.
- [7] Pahlsson A M B. Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants. A literature review[J]. *Water, Air & Soil Pollution*, 1989, 47(3-4): 287-319.
- [8] Price A H, Hendry G A F. Iron-catalysed oxygen radical formation and its possible contribution to drought damage in nine native grasses and three cereals[J]. *Plant Cell and Environment*, 1991, 14(5): 477-484.
- [9] Palmgren M G, Clemens S, Williams L E, et al. Zinc biofortification of cereals: problems and solutions[J]. *Trends in Plant science*, 2008, 13(9): 464-473.
- [10] Grotz N, Guerinot M L. Molecular aspects of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Cell Research*, 2006, 1763(7): 595-608.
- [11] Kambe T, Yamaguchi-iwai Y, Sasaki R, et al. Overview of mammalian zinc transporters[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 2004, 61(1): 49-68.
- [12] Taylor K M, Morgan H E, Johnson A, et al. Structure-function analysis of *HKE4*, a member of the new *LIV-1* subfamily of zinc transporters[J]. *Biochemical Journal*, 2004, 377(Pt 1): 131-139.
- [13] Colangelo E P, Guerinot M L. Put the metal to the petal: metal uptake and transport throughout plants[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2006, 9(3): 322-330.
- [14] Guerinot M L. The ZIP family of metal transporters[J]. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes*, 2000, 1645(1-2): 190-198.
- [15] Edide D, Broderius M, Fett J, et al. A novel iron-regulated metal transporter from plants identified by functional expression in yeast[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1996, 93(11): 5624-5628.
- [16] Vert G, Grotz N, Dedaldechamp F, et al. *IRT1*, an Arabidopsis transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth[J]. *Plant Cell*, 2002, 14(6): 1223-1233.
- [17] Mäser P, Thomine S, Schroeder J L, et al. Phylogenetic relationships within cation transporter families of Arabidopsis[J]. *Plant Physiology*, 2001, 126(4): 1646-1667.
- [18] Lin Y F, Liang H M, Yang S Y, et al. Arabidopsis *IRT3* is a zinc-regulated and plasma membrane localized zinc/iron transporter[J]. *New Phytologist*, 2009, 182(2): 392-404.
- [19] Lee S, An G. Over-expression of *OsIRT1* leads to increased iron and zinc accumulations in rice[J]. *Plant Cell and Environment*, 2009, 32(4): 408-416.
- [20] Lee S, Jeong H J, Kim S A, et al. *OsZIP5* is a plasma membrane zinc transporter in rice[J]. *Plant Molecular Biology*, 2010, 73(4-5): 507-517.
- [21] Ishimaru Y, Masuda H, Suzuki M, et al. Overexpression of the *OsZIP4* zinc transporter confers disarrangement of zinc distribution in rice plants[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(11): 2909-2915.
- [22] Durmaz E, Coruh C, Dinler G, et al. Expression and cellular localization of *ZIP1* transporter under zinc deficiency in wild emmer wheat[J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2011, 29(3): 582-596.
- [23] Sato S, Tabata S, Hirakawa H, et al. The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution[J]. *Nature*, 2012, 485(7400): 635-641.
- [24] 郑玲, 谢爱玲, 韩建明. 高粱 MADS-box 家族基因的鉴定与分析[J]. *东北农业科学*, 2019, 44(5): 26-29.
- [25] Hu B, Jin J, Guo A Y, et al. GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server[J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(8): 1296-1297.
- [26] Zouine M, Maza E, Djari A, et al. TomExpress, a unified tomato RNA-Seq platform for visualization of expression data, clustering and correlation networks[J]. *Plant Journal*, 2017(92): 727-735.
- [27] 倪万潮, 巩元勇, 徐珍珍, 等. 陆地棉 *GhZIP* 基因家族全基因组分析[J]. *华北农学报*, 2015, 30(6): 8-16.
- [28] Eng B H, Guerinot M L, Eide D, et al. Sequence analyses and phylogenetic characterization of the ZIP family of metal ion transport proteins[J]. *Journal Membrane Biology*, 1998, 166(1): 1-7.
- [29] Krämer U, Talke I N, Hanikenne M. Transition metal transport [J]. *FEBS Letters*, 2007, 581(12): 2263-2272.
- [30] Lee S, Kim S A, Lee J, et al. Zinc deficiency-inducible *OsZIP8* encodes a plasma membrane-localized zinc transporter in rice [J]. *Molecules and Cells*, 2010, 29(6): 551-558.

研究,另外,雌雄成虫之间交尾前后对寄主挥发物有无明显区别还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 王泽乐,刘映红,江兴培,等.诱剂监测南亚果实蝇在重庆的分布与发生动态[J].西南农业大学学报(自然科学版),2006,28(2):309-313,315.
- [2] 冯旭,韩萌萌,徐永清,等.三种东北常见乳汁植物乙醇提取物杀虫性研究[J].东北农业科学,2016,41(6):86-88.
- [3] 张强,朱晓敏,骆家玉,等.白僵菌在田间自然环境中对玉米螟持续防效的初步研究[J].东北农业科学,2019,44(3):20-22,27.
- [4] 李丽娟,鲁新,张国红,等.赤眼蜂对不同基质的玉米螟卵的寄生选择性[J].东北农业科学,2016,41(4):75-78.
- [5] 袁盛勇,孔琼,孙燕,等.球孢白僵菌对南瓜实蝇致病力的测定[J].江苏农业科学,2015,43(9):156-160.
- [6] 刘丽红,刘映红,周波,等.南亚实蝇在不同寄主上数量动态及危害研究[J].西南农业大学学报(自然科学版),2005,27(2):176-179.
- [7] 李瑜.新鲜南瓜和南瓜汁挥发性风味物质的成分比较[J].食品科学,2010,31(2):208-210.
- [8] 李艳艳,周晓榕,庞保平,等.多异瓢虫对瓜蚜为害后植物挥发物的行为反应及挥发物成分分析[J].昆虫学报,2013,56(2):157-158.
- [9] 梁帆,梁广勤,赵菊鹏,等.实蝇引诱物的研究概况[J].生物灾害科学,2014,37(3):204-210.
- [10] Hasyim A, Muryati, Kogel W J. Male fruit fly, *Bactrocera tau* (Diptera: Tephritidae) Attractants from *Elsholtziapubescens* Bth [J]. Asian Journal of Plant Sciences, 2007, 6(1): 1-3.
- [11] 王璐丰,胡奎,贺华良,等.南方水稻黑条矮缩病毒诱导的水稻挥发物及白背飞虱成虫对其组分的行为反应[J].昆虫学报,2017,60(4):412-420.
- [12] 郭晓春,宋顺超,胡光辉,等.几种油茶挥发物对刺股沟臀肖叶甲的引诱试验[J].西部林业科学,2018,47(5):57-60.
- [13] 吴健,宋学森,胡碗晴,等.8种寄主植物挥发物对橘小实蝇的引诱作用[J].福建农林大学学报(自然科学版),2018,47(6):655-660.
- [14] 李磊,牛黎明,韩冬银,等.瓜实蝇对不同果香香精的趋向行为研究[J].热带作物学报,2019,40(2):328-333.
- [15] 马艳粉,田先娇,胥勇,等.几种物质对火龙果园内桔小实蝇的诱集效果[J].中国南方果树,2017,46(2):116-118.
- [16] 张淑颖,肖春,叶敏,等.香蕉果肉挥发物对桔小实蝇成虫的引诱作用[J].华中农业大学学报,2006,25(5):512-514.
- [17] 申建梅,凌志强,陆永跃,等.葡萄柚成熟果实气味对桔小实蝇雌虫的引诱及其化学成分[J].中国南方果树,2017,46(6):34-36.
- [18] 王平,袁盛勇,李建鹏,等.南瓜实蝇的产卵选择性研究[J].红河学院学报,2009,7(2):37-39.
- [19] 杜家纬.植物-昆虫间的化学通讯及其行为控制[J].植物生理学报,2001,27(3):193-200.
- [20] 秦卓,康育光.植物挥发物对昆虫选择寄主行为的影响[J].现代农业,2013(12):44-45.
- [21] 向玉勇,刘同先,张世泽.植物挥发物在植食性昆虫寄主选择行为中的作用及应用[J].安徽农业科学,2015,43(28):92-94,183.

(责任编辑:王昱)

(上接第48页)

- [31] Pedas P, Schjoerring J K, Husted S. Identification and characterization of zinc-starvation-induced ZIP transporters from barley roots[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2009, 47(5): 377-383.
- [32] Wintz H, Fow T, Wu Y Y, et al. Expression profiles of Arabidopsis thaliana in mineral deficiencies reveal novel transporters involved in metal homeostasis[J]. Journal of Biological Chemistry, 2003, 48(278): 47644-47653.

(责任编辑:刘洪霞)