

番茄 (*Solanum lycopersicum*) VOZ 基因的鉴定及表达模式分析

杨建红¹, 巩元勇^{2*}, 赵丽华², 闫飞²

(1. 无棣县农业农村局, 山东 滨州 251700; 2. 攀枝花学院生物与化学工程学院, 四川 攀枝花 617000)

摘要: VOZ 蛋白是一类植物特有的转录因子, 它在调控植物花发育和应对生物和非生物胁迫过程中发挥重要作用。本研究通过对番茄基因组的扫描共鉴定出 2 个 *SIVOZ* 基因, 并采用生物信息学方法对核苷酸序列和蛋白质序列进行系统全面的分析, 并研究了基因表达模式。蛋白质基本理化性质分析表明, 它们都是酸性、不稳定、亲水非脂溶性蛋白质。基因结构分析显示, 2 个 *SIVOZ* 基因都是 4 个外显子和 3 个内含子的基因结构模式。蛋白质二级结构不同组分占比趋势相同, 从高到低依次是无规则卷曲、 α 螺旋、延伸链、 β 折叠; 蛋白质三级结构都具有相似的空间构象; 氨基酸序列具有相同的 5 个基序, 且基序的排布顺序同多重序列比对结果也一致。系统进化树显示, 2 个 *SIVOZ* 在进化关系上最近, 且它们在单子叶植物和双子叶植物分化之前已经完成分化。这 2 个 *SIVOZ* 基因在不同的组织部位都有一定的表达, 表明它们不具备组织表达特异性, 然而基因的表达强弱受果实不同发育时期影响显著。本研究结果将为深入开展番茄 *SIVOZ* 基因相关的克隆和功能研究提供理论参考。

关键词: 番茄; VOZ 基因; 生物信息学; 表达模式

中图分类号: S641.2

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2023)06-0076-07

Identification and Expression Analysis of VOZ Gene in *Solanum lycopersicum*

YANG Jianhong¹, GONG Yuanyong^{2*}, ZHAO Lihua², YAN Fei²

(1. Bureau of Agriculture and Rural Affairs of Wudi County, Binzhou 251700; 2. Biological and Chemical Engineering College, Panzhihua University, Panzhihua 617000, China)

Abstract: VOZ protein is a type of plant-specific transcription factor, which plays an important role in regulating plant flower development and responding to biotic and abiotic stresses. In this research, two *SIVOZ* genes were identified by scanning the tomato whole genome, and the nucleotide sequence and protein sequence were systematically and comprehensively analyzed using bioinformatics methods, and gene expression patterns were studied. Analysis of the basic physical and chemical properties of proteins shows that they are all acidic, unstable, hydrophilic and non-fat-soluble proteins. Gene structure analysis shows that the two *SIVOZ* genes are all gene structure patterns with 4 exons and 3 introns. The different components of the protein secondary structure accounts for the same trend. From high to low, they are random coils, α helix, extended chain, and β sheet. Their tertiary structures of proteins all have similar spatial conformations. The amino acid sequence has the same 5 motifs, and the arrangement order of the motifs is also consistent with the multiple sequence alignment results. The phylogenetic tree shows that the two *SIVOZ*s are the closest in evolutionary relationship, and they have completed differentiation before the differentiation of monocots and dicots. These two *SIVOZ* genes have certain expression in different tissue parts, indicating that they do not have tissue expression specificity, but the gene expression strength is significantly affected by the different developmental stages of the fruit. The results of this article will provide theoretical references for further research on the cloning and function of tomato *SIVOZ* genes.

Key words: Tomato; VOZ gene; Bioinformatics; Expression pattern

收稿日期: 2021-02-08

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); 2020 年攀枝花学院博士科研启动经费项目 (035200254)

作者简介: 杨建红 (1981-), 女, 农艺师, 硕士, 从事植物逆境生理研究。

通讯作者: 巩元勇, 男, 博士, 副教授, E-mail: gyy2011qh@163.com

维管植物锌指蛋白(Vascular plant One-Zinc finger, VOZ)是一类植物特异性转录因子,其家族由VOZ1和VOZ2两个成员组成,仅存在于维管植物和藓类植物 *Physcomitrella patens* 中^[1]。利用cDNA文库的酵母单杂交筛选,VOZ转录因子最初被鉴定为能够特异性识别并结合到拟南芥V-PPase基因(*AVP1*)调控区 *GCGTNx7ACGC* 回文序列的一类蛋白^[1]。随后的研究也证明了 *GCGTNx7ACGC* 回文序列是VOZ转录因子的结合位点,几个可能与VOZ结合并相互作用的顺式元件也被鉴定出来^[2-4]。研究与VOZ发生互作的顺式作用元件发现,VOZ转录因子可能在开花过程中起关键作用。进一步研究发现,VOZ1和VOZ2作为与光敏色素B(*phyB*)基因相互作用的转录因子,通过上调拟南芥 *FT*(*FLOWERING LOCUS T*)基因和下调 *FLC*(*FLOWERING LOCUS C*)基因的表达,在拟南芥由营养生长到生殖生长过程中的作用是冗余的^[2,5]。另一方面,VOZ1和VOZ2主要通过CO(*CONSTANS*)相互作用并调节其功能来促进开花,而这在拟南芥中与 *FLC* 无关^[3]。

除了在开花中的作用,VOZ作为转录调节因子还能够抑制植物对冰冻、干旱和高温等非生物胁迫的耐受性,但是可以激活植物对包括细菌和真菌病原体在内的生物胁迫的抵抗力。在拟南芥中,VOZ2基因的超表达降低了转基因植物对冰冻和干旱的抵抗,但增加了对真菌病原菌—希金斯炭疽菌(*Colletotrichum higginsianum*)的抗性^[6]。同样在拟南芥研究中发现, *voz1voz2* 双突变体表现出对冷冻和干旱胁迫的耐受性增强,但对希金斯炭疽菌和细菌病原菌—丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringa*)的抗性增强^[7-8]。最近发现,VOZ1和VOZ2通过独立抑制拟南芥中 *DREB2C* 或 *DREB2A* 基因的表达来调节高温胁迫反应^[9-10]。与冰冻和干旱胁迫相比,VOZ转录因子在盐胁迫反应中起着相反的作用。VOZ1和VOZ2可以直接或间接调控大量的与胁迫反应相关基因在转录水平的表达,从而赋予拟南芥更强的耐盐性^[4]。此外,还研究了在拟南芥中VOZ转录因子对缺铁胁迫的作用,但发现VOZ1和VOZ2在缺铁胁迫反应中并没有重要的生理作用^[8]。

在水稻基因组中存在2个VOZ转录因子基因。研究发现, *OsVOZ1* 基因在叶、茎和根等多个部位表达,且多种逆境可以诱导该基因表达;超表达 *OsVOZ1* 基因可以增强转基因植株对盐胁迫的抗性^[11]。最新研究证实, *OsVOZ1* 和 *OsVOZ2* 在

水稻对稻瘟病的免疫中发挥重要作用,主要表现在 *OsVOZ1* 和 *OsVOZ2* 对基础防御有负调节作用,但对 *Piz-t* 介导的免疫有正调节作用^[12]。在大豆基因组中鉴定有6个VOZ转录因子基因,在脱水、盐和水杨酸(SA)胁迫条件下, *GmVOZs* 表现出不同的表达谱。其中, *GmVOZ1G* 在所有胁迫处理下均表现出显著的诱导表达。 *GmVOZ1G* 在大豆毛状根中的超表达导致对干旱和盐胁迫的耐受性增强;与之相反, *RNAi* 抑制 *GmVOZ1G* 基因在大豆毛状根中的表达表现出对这两种胁迫更为敏感。结果表明, *GmVOZ1G* 基因在大豆的毛状根中对干旱和盐胁迫起到正调控的作用^[13]。

番茄因其对生态环境适应性强,再加上它的果实味道鲜美、营养丰富,早就成为重要的园艺作物在全世界范围内广泛种植。同时,它还是研究果实发育的重要模式植物,所以加强对番茄分子生物学的研究非常必要。当前对VOZ转录因子的研究主要集中在拟南芥,在水稻和大豆中的研究也是近几年才开始,在番茄中的研究还鲜见有报道。鉴于VOZ转录因子在花器官发育和植物对逆境适应中的重要作用,通过运用生物信息学手段对已经公布的有关番茄VOZ基因的数据信息进行系统的整理和分析,所得研究结果必将对开展番茄VOZ转录因子基因的克隆和功能研究提供重要的参考价值。

1 材料与与方法

1.1 植物VOZ基因家族序列的获得

分别利用拟南芥 *AtVOZ1*(At1g28520, NP_174174.1)和 *AtVOZ2*(At2g42400, NP_565972.1)以及水稻 *OsVOZ1*(Os01g54930, XP_015621735.1)和 *OsVOZ2*(Os05g43950, XP_015640409.1)共4条基因的蛋白质序列为探针,在Phytozome (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>)番茄基因组数据库Blast搜索番茄VOZ基因,并在序列区获得这些基因的编码区序列、CDS序列和氨基酸序列。

用于构建进化树的大豆(*Glycine max*)的6个VOZ成员在植物转录因子数据库PlantTFDB(<http://plantfdb.gao-lab.org/>)获得,分别是 Glyma.06G28580、Glyma.07G202700、Glyma.10G068900、Glyma.11G211900、Glyma.12G120100、Glyma.13G17290,玉米(*Zea mays*)的4个VOZ蛋白质序列在MaizeGDB (<https://www.maizegdb.org/>)获得,分别是 Zm00001d012734、Zm00001d038704、Zm00001d043500、Zm00001d041158。

1.2 方法

1.2.1 番茄、拟南芥和水稻 VOZ 基因基本特性及亚细胞定位

番茄 VOZ 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 SIVOZ、AtVOZ 和 OsVOZ 的分子量、理论等电点、不稳定系数、亲水性指数和脂肪指数等信息^[14];利用 WoLF PSORT(<https://wolfsort.hgc.jp/>)对 VOZ 蛋白进行亚细胞定位。

1.2.2 番茄、拟南芥和水稻 VOZ 基因生物信息学在线分析

番茄、拟南芥和水稻 VOZ 基因的编码区序列和 CDS 序列都从 Phytozome 获取,采用 GSDS (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>)^[15]在线绘制这三种植物 VOZ 基因结构图;利用 SOPMA(https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html)在线分析 VOZ 蛋白的二级结构,获得 α 螺旋、 β 折叠、无规则卷曲和延伸链等组分所占比例;利用 SWISS-MODEL(<https://swissmodel.expasy.org/interactive>)对 VOZ 蛋白的三级结构进行预测;通过 MEME(<http://meme-suite.org/tools/meme>)在线分析 VOZ 蛋白的保守基序,设置搜寻 5 个基序。

1.2.3 植物 VOZ 蛋白的多重序列比对和进化树构建

VOZ 蛋白序列的多重序列比对用 DNAMAN 软件进行,并获得不同序列间的同源性对比值;先用 Clustal W 对番茄、拟南芥、大豆、水稻和玉米等 5 种植物 18 个 VOZ 蛋白序列进行多重比对,然后用 MEGA7.0 软件采用 NJ(Neighbor-Joining)法对这些 VOZ 蛋白序列构建进化树,校验参数 Bootstrap=1 000。

1.2.4 番茄 VOA 基因组织表达分析

对获得的 SIVO1 和 SIVO2 两个基因利用番茄表达谱网站 TomExpress ([http://tomexpress.tou-](http://tomexpress.toulouse.inra.fr/)

[louse.inra.fr/](http://tomexpress.toulouse.inra.fr/))^[16]在线分析它们在不同组织及番茄果实不同成长阶段的表达情况,选择番茄基因组测序的 Heinz 1706 品种构建基因表达热图。

2 结果与分析

2.1 番茄 VOZ 基因基本特性及氨基酸序列理化性质和亚细胞定位

为了便于比较,此处也将拟南芥和水稻 VOZ 基因基本信息和氨基酸序列理化性质共同分析(表 1)。从 Phytozome 番茄基因组的 2 号和 10 号染色体各鉴定获得 1 个 SIVOZ 基因,所对应的基因座位 ID 为 Solyc02g077450 和 Solyc10g008880,将这两个基因分别命名为 SIVOZ1 和 SIVOZ2。番茄同拟南芥和水稻一样,在它们的基因组上都只包含两个 VOZ 基因,而且同一物种中两个基因都分别定位到不同的染色体上。编码区长度来看,OsVOZ1 的编码区长度最长,为 3 762 bp;AtVOZ1 的编码区长度最短,为 1 767 bp,两者的长度差将近 2 000 bp。不同物种两个 VOZ 基因的编码区整体长度来看,水稻的长度最长,番茄的次之,拟南芥的最短。而番茄和拟南芥的 CDS 长度差别却不大,水稻的两个 VOZ 基因 CDS 长度出现两极分化,OsVOZ1 在所有的成员中最短(1 290 bp),而 OsVOZ2 在所有的成员中最长(1 926 bp)。VOZ 基因翻译后的氨基酸序列长度和分子质量的差异同这些基因的 CDS 长度的差异完全一致。这些 VOZ 蛋白的理论等电点都小于 7,所以它们都属于酸性蛋白;而它们的不稳定系数都超过了 40,表明这些都是不稳定蛋白;所有 VOZ 蛋白的亲水性指数都为负值,说明它们都是亲水性蛋白;这些蛋白的脂肪指数都小于 75.50,表明它们都是非脂溶性蛋白。VOZ 蛋白的亚细胞定位结果显示,拟南芥和水稻的 VOZ 蛋白都定位到细胞核,而番茄的 SIVOZ1 和 SIVOZ2 分别定位到线粒体和叶绿体,由于亚细胞定位的不同,番茄 VOZ 基因的功能也可能有别于拟南芥和水稻的基因。

表 1 番茄、拟南芥和水稻 VOZ 基因基本信息

基因	基因座位 ID	编码区长度(bp)	CDS 长度(bp)	氨基酸长度(aa)	分子量(kD)	理论等电点	不稳定系数	亲水性指数	脂肪指数	亚细胞定位
SIVOZ1	Solyc02g077450	3 679	1 404	467	52.08	5.26	48.97	-0.699	67.94	线粒体
SIVOZ2	Solyc10g008880	2 666	1 434	477	53.54	6.00	47.62	-0.596	73.63	叶绿体
AtVOZ1	At1g28520	1 767	1 461	486	54.08	5.73	44.59	-0.636	66.87	细胞核
AtVOZ2	At2g42400	1 792	1 353	450	50.57	5.17	53.23	-0.812	62.93	细胞核
OsVOZ1	Os01g54930	3 762	1 290	429	48.11	5.10	58.81	-0.637	64.41	细胞核
OsVOZ2	Os05g43950	3 630	1 926	641	69.90	5.39	59.84	-0.744	58.66	细胞核

2.2 番茄 VOZ 基因结构分析

整体来看,番茄、拟南芥和水稻三种植物 VOZ 基因的结构基本一致,都是由 4 个外显子和 3 个内含子构成,只有 OsVOZ1 基因例外,它的基因结构有 3 个外显子和 2 个内含子(图 1)。从外显子长度的保守性来分析,它们之间所对应外显子的长度差别不是很大,其中第三个外显子(E3)的保守性最高,第二个外显子(E2)的保守性最差,而且这种差异在番茄和拟南芥中表现不大,主要差别来自水稻基因,这可能是植物种属单双子叶植物在

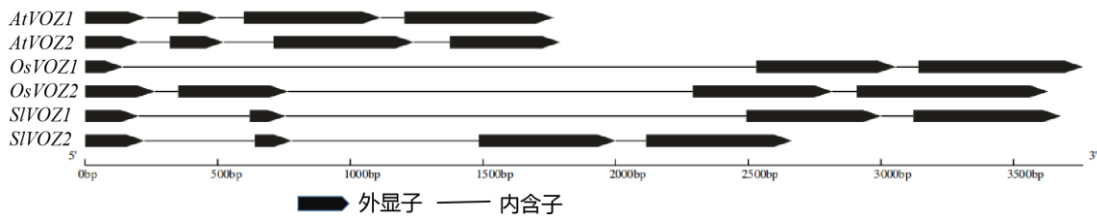


图 1 番茄、拟南芥和水稻 VOZ 基因结构示意图

表 2 番茄、拟南芥和水稻 VOZ 基因外显子和内含子的数量及长度

基因名	外显子及其长度(bp)				内含子及其长度(bp)		
	E1	E2	E3	E4	I1	I2	I3
SIVOZ1	203	136	508	557	391	1736	121
SIVOZ2	225	141	517	551	415	704	113
AtVOZ1	231	150	517	563	120	97	89
AtVOZ2	204	204	517	416	116	74	261
OsVOZ1	144	526	620		2387	85	
OsVOZ2	264	414	526	722	87	1526	91

注: E(Extron: 外显子), I(Intron: 内含子)

2.3 番茄 VOZ 蛋白二级结构和三级结构预测分析

通过对番茄、拟南芥和水稻三种植物 VOZ 蛋白序列的二级结构对比发现,二级结构不同组分在所有的蛋白质中所占的比例高低趋势是一致的,都是无规则卷曲占比最高,之后是 α 螺旋和延伸链,占比最低的是 β 折叠(表 3)。不同 VOZ 蛋白序列间各组分的占比,番茄和拟南芥的差别不大,主要的差别出现在水稻上。如 α 螺旋占比,番茄和拟南芥的都在 30% 到 35% 之间,而水稻 OsVOZ1 的 α 螺旋占比只有 20.28%, OsVOZ2 的 α 螺旋占比也不到 30%(表 3)。其他的组分占比也有类似情况, β 折叠和延伸链占比最高值 4.66% 和 15.85% 都出现在水稻 OsVOZ1 蛋白,而无规则卷曲最高值 59.44% 则出现在水稻 OsVOZ2 蛋白。

由于 VOZ 蛋白是锌指类蛋白的一种,所以在它们的三级结构中很容易发现典型的锌指结构,

染色体上存在差异所致。

基因间内含子长度的差异是它们编码区长度差出现的主要原因。SIVOZ1 和 SIVOZ2 这两个基因的编码区长度差超过 1 100 bp,而它们的 CDS 长度却仅差 30 bp,有趣的是,编码区长的基因,其 CDS 长度反而变短,表明这两个基因在核苷酸序列上的差异是由于内含子序列的差异造成的;由图 1 和表 2 不难发现,基因的第二个内含子(I2)是造成差异的主要原因。

即 1 个 α 螺旋和 2 个反平行的 β 折叠,这在图 2 表现的非常明显。图 2 的蛋白质三级结构预测结果也不难发现,番茄、拟南芥和水稻三种植物 VOZ 蛋白的空间构象非常相似,这些都为此类蛋白行使相似的功能提供了空间结构基础。

表 3 番茄、拟南芥和水稻 VOZ 蛋白二级结构各组分所占比例

蛋白质	各组分所占比例			
	α 螺旋占比	β 折叠占比	无规则卷曲占比	延伸链占比
SIVOZ1	34.69	3.21	52.68	9.42
SIVOZ2	30.82	3.14	57.65	8.39
AtVOZ1	31.07	3.50	55.14	10.29
AtVOZ2	34.00	3.56	54.22	8.22
OsVOZ1	20.28	4.66	59.21	15.85
OsVOZ2	28.08	3.12	59.44	9.36

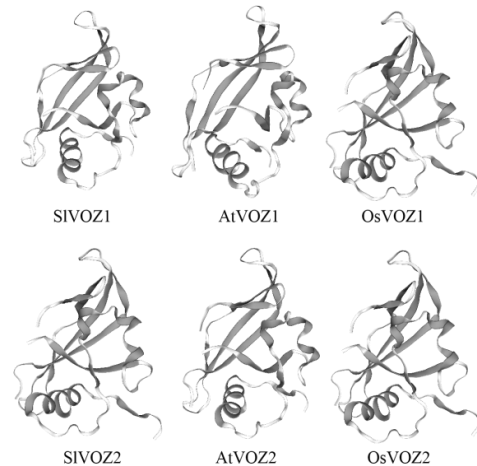


图 2 番茄、拟南芥和水稻 VOZ 蛋白三级结构预测结果

2.4 番茄 VOZ 蛋白基序和氨基酸序列同源性比对

在 MEME 网站搜寻鉴定了 VOZ 蛋白序列 5 个基序(Motif)的存在和分布情况。由图 3 不难发现,这 6 条 VOZ 蛋白序列,除了 OsVOZ1 有 4 个基序以外,其他都有 5 个基序;这 5 个基序只有基序 4 由 29 个氨基酸组成,其他 4 个基序都由 50 个氨基酸

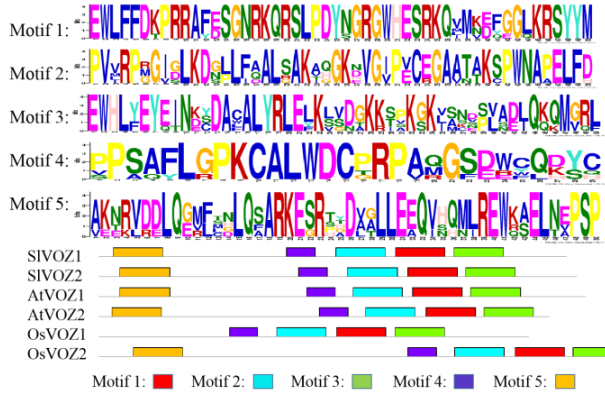


图3 番茄、拟南芥和水稻 VOZ 蛋白保守基序分布情况

构成;这 5 个基序在蛋白质序列上的排布顺序都是一致的,都是按照基序 5、基序 4、基序 2、基序 1 和基序 3 的顺序分布;基序 4、基序 2、基序 1 和基序 3 相对集中,在物理位置上靠的比较近,基序 5 在序列的起始端,距离其他 4 个基序较远。

由 6 条 VOZ 氨基酸序列的多重序列比对结果

可知,它们的同源一致性达到 48.42%。两两之间比对, SIVOZ1 和 SIVOZ2 的同源性最高,达到 81.1%; AtVOZ2 和 OsVOZ2 的同源性最低,为 43% (表 4)。基序的排布和氨基酸序列的多重序列比对结果是可以一一对应的,最显著的是,在多重序列比对结果图上 OsVOZ1 是明显缺少基序 5 的,其他 4 个基序的分布区域也是氨基酸序列一致性最高的区域。

表 4 番茄、拟南芥和水稻 VOZ 氨基酸序列同源性比对

同源性	SIVOZ1	SIVOZ2	AtVOZ1	AtVOZ2	OsVOZ1	OsVOZ2
SIVOZ1	100%					
SIVOZ2	81.1%	100%				
AtVOZ1	65.4%	65.9%	100%			
AtVOZ2	52.3%	52.6%	49.0%	100%		
OsVOZ1	50.4%	49.9%	49.1%	46.2%	100%	
OsVOZ2	50.9%	47.9%	47.0%	43.0%	68.5%	100%

2.5 番茄 VOZ 蛋白进化分析

选取番茄、拟南芥、水稻、大豆和玉米等五种植物 VOZ 基因的氨基酸序列构建进化树,确定 VOZ 基因的进化关系。如图 4 所示,进化树聚类后分为两个主要的分支,番茄、拟南芥和大豆这三种双子叶植物聚到一起,水稻和玉米这两种单子叶植物聚到一起;从进化树分支末端的聚类来看,同一物种的 VOZ 同源性最近,如大豆的 Glyma.07G202700 和 Glyma.13G172900、Glyma.10G0

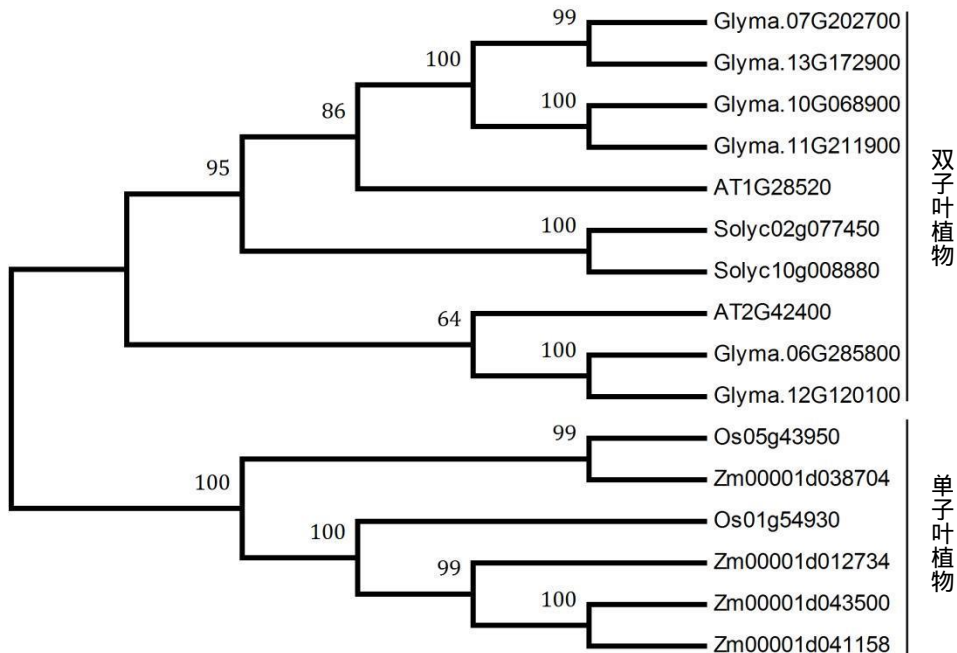


图 4 5 种不同植物 VOZ 蛋白进化树

68900 和 Glyma. 11G211900、Glyma. 06G285800 和 Glyma.12G120100, 番茄的 2 个 VOZ 也是同源关系最近, 单子叶植物的玉米亦是如此。综上, 植物 VOZ 蛋白的进化既遵循植物种属的分类原则, 也遵循相同物种同源性最高原则。

2.6 番茄 VOZ 基因的组织表达

由图 5 可以很直观地观察到番茄 2 个 *SIVOZ* 基因在不同组织的表达情况。*SIVOZ1* 和 *SIVOZ2* 这两个基因在番茄的根、叶、花和果实等不同组织器官都有表达, 但是相比较而言 *SIVOZ2* 基因的表达量要显著高于 *SIVOZ1* 的表达。*SIVOZ1* 在根的表达要高于叶中的表达; 在花蕾中的表达要高于在花中的表达, 其在花中几乎不表达; 在整个果实成熟过程表达量普遍偏低, 但是在绿熟期的表达量最高。*SIVOZ2* 在叶的表达要高于根中的表达, 在花蕾中的表达要高于在花中的表达; 随着果实的逐渐成熟, 其表达量也在逐渐增加, 在 3 cm 果实期和破色期表达量最高。

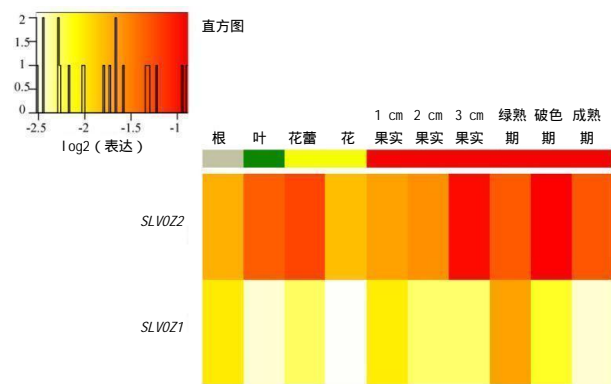


图 5 *SIVOZ* 基因在番茄不同组织的表达

3 讨论

番茄基因组早在 2012 年已经测序完成并公布^[17], 这为在基因组层面上搜寻和鉴定 *SIVOZ* 基因提供了前提条件。根据水稻和拟南芥中已报道的 VOZ 成员, 大多数植物中 VOZ 转录因子在系统发育树上可分为 VOZ1 和 VOZ2 两大亚科^[18]。实际上, VOZ 基因家族相对较小, 在拟南芥、谷子、水稻、短梗草或烟草等植物基因组中也只有 2 个成员^[18]。在番茄的基因组中也只鉴定出 2 个 *SIVOZ* 基因, 这 2 个基因翻译后的蛋白质序列的基本理化性质同拟南芥和水稻的基本一致(表 1); 蛋白质的二级结构、三级结构、多重序列比对和保守基序的预测分析结果都表明, 番茄 VOZ 转录因子具

有与其他植物 VOZ 转录因子相类似的结构特性, 这些都预示 VOZ 转录因子在功能上的一致或者相似。

植物 VOZ 基因的结构以 4 个外显子和 3 个内含子的结构为主, 在图 1 所示的结果中, 只有 *OsVOZ1* 不是这样。大豆的 *GmVOZ* 基因也证明了这一点, 大豆基因组中鉴定出的 6 个 *GmVOZ* 基因的基因结构都是由 4 个外显子和 3 个内含子构成, 而且这些序列的外显子间更加的保守^[13]。通常情况下转录因子是在细胞核中发挥作用, 所以转录因子的亚细胞定位也一般定位到细胞核中。本研究对 *OsVOZ1* 的亚细胞定位预测就定位在细胞核, 但通过研究表明它实际定位到细胞质和细胞膜^[11]; 大豆 *GmVOZ1E*, *GmVOZ2B*, *GmVOZ2D* 基本定位到细胞质, *GmVOZ1E* 主要定位到细胞核, 而 *GmVOZ1C* 则在内质网、线粒体和叶绿体等多个细胞器都有发现^[13]。预测番茄 *SIVOZ1* 定位到线粒体, *SIVOZ2* 定位到叶绿体, 它们两个都没有定位到细胞核, 当然必须通过实验才能最终确定它们的实际亚细胞定位位置, 如果确实没有定位到细胞核, 也必然存在相应的蛋白质运输机制将它们运输到细胞核去发挥作用。

研究表明, 拟南芥 *AtVOZ1* 和 *AtVOZ2* 在不同的组织部位都有表达, 其中 *AtVOZ1* 在韧皮部组织中特异表达, *AtVOZ2* 在根中强烈表达^[1]; 水稻 *OsVOZ1* 基因在多个不同部位也都有表达, 并且它的表达受多种胁迫的诱导^[11]; 大豆 *GmVOZ* 基因在不同的组织部位和发育时期都有表达, 但是受不同部位和发育时期的影响个别基因的表达有明显强弱变化^[13]。番茄 *SIVOZ1* 和 *SIVOZ2* 基因的表达也是如此, 没有组织表达特异性, 但是受发育时期的影响明显。

进化树研究将 VOZ 转录因子根据单子叶和双子叶植物分为两个聚类(图 4), 这说明 VOZ 转录因子在单子叶植物和双子叶植物分化之前已经完成分化, 番茄的两个 *SIVOZ* 转录因子也符合这个规律。总之, 从番茄基因组中鉴定出的 *SIVOZ1* 和 *SIVOZ2* 转录因子基因既符合植物 VOZ 转录因子的一般分子生物学特征, 又有其自身的某些特点, 这些都为番茄 *SIVOZ* 转录因子基因的克隆和功能研究提供必要的参考。

参考文献:

[1] Nobutaka M, Toru H, Kunio T, et al. VOZ; Isolation and Charac-

- terization of Novel Vascular Plant Transcription Factors with a One-Zinc Finger from *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2004, 45(7): 845–854.
- [2] Celesnik H, Ali G S, Robison F M, et al. *Arabidopsis thaliana* VOZ (Vascular plant One-Zinc finger) transcription factors are required for proper regulation of flowering time[J]. *Biology Open*, 2013, 2(4): 424–431.
- [3] Kumar S, Choudhary P, Gupta M, et al. Vascular plant one-zinc finger1 (*voz1*) and *voz2* interact with constans and promote photoperiodic flowering transition[J]. *Plant Physiology*, 2018, 176(4): 2917–2930.
- [4] Prasad K V S K, Xing D H, Reddy A S N. Vascular plant one-zinc-finger (VOZ) transcription factors are positive regulators of salt tolerance in *Arabidopsis*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(12): 3731.
- [5] Yasui Y, Mukougawa K, Uemoto M, et al. The Phytochrome-Interacting VASCULAR PLANT ONE-ZINC FINGER1 and VOZ2 Redundantly Regulate Flowering in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2012, 24(8): 3248–3263.
- [6] Nakai Y, Fujiwara S, Kubo Y, et al. Overexpression of VOZ2 confers biotic stress tolerance but decreases abiotic stress resistance in *Arabidopsis*[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2013, 8(3): e23358.
- [7] Nakai Y, Nakahira Y, Sumida H, et al. Vascular plant one-zinc-finger protein 1/2 transcription factors regulate abiotic and biotic stress responses in *Arabidopsis*[J]. *Plant Journal*, 2013, 73(5): 761–775.
- [8] Selote D, Matthiadis A, Gillikin J W, et al. The E3 ligase BRUTUS facilitates degradation of VOZ1/2 transcription factors [J]. *Plant Cell & Environment*, 2018, 41(10): 2463–2474.
- [9] Song C, Lee J, Kim T, et al. VOZ1, a transcriptional repressor of DREB2C, mediates heat stress responses in *Arabidopsis*[J]. *Planta*, 2018, 247(6): 1439–1448.
- [10] Koguchi M, Yamasaki K, Hirano T, et al. Vascular plant one-zinc-finger protein 2 is localized both to the nucleus and stress granules under heat stress in *Arabidopsis*[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2017, 12(3): e1295907.
- [11] 谈存梅. 水稻 VOZ1 基因的克隆与功能分析[D]. 成都: 四川农业大学, 2014.
- [12] Wang J, Wang R, Fang H, et al. Two VOZ transcription factors link an E3 ligase and an nlr immune receptor to modulate immunity in rice[J]. *Molecular Plant*, 2020, 14(2): 253–266.
- [13] Li B, Zheng J C, Wang T T, et al. Expression analyses of soybean VOZ transcription factors and the role of *gmvoz1g* in drought and salt stress tolerance[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(6): 2177.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] 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(4): 727–735.
- [17] 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.
- [18] Gao B, Chen M, Li X, et al. Evolution by duplication: Paleopolyploidy events in plants reconstructed by deciphering the evolutionary history of VOZ transcription factors[J]. *BMC Plant Biology*, 2018, 18(1): 256.

(责任编辑:王昱)