

玉米 β -甘露聚糖酶基因家族的生物信息学分析

高清松, 孙辉, 陈国冲, 韦雨亭, 黄雨晴, 史胜男, 胥明, 周建 (淮阴师范学院生命科学学院, 江苏省区域现代农业与环境保护协同创新中心/江苏省环洪泽湖生态农业生物技术重点实验室, 江苏淮安 223300)

摘要 [目的] 鉴定出玉米基因组中的 β -甘露聚糖酶基因 (*MAN*), 并分析其进化机制和表达模式。[方法] 利用拟南芥 *MAN* 蛋白序列在玉米基因组数据库以及 NCBI 非冗余蛋白质数据库中比对搜索, 获取玉米 *MAN* 家族全部成员; 通过检索植物基因组复制数据库查找玉米 *MAN* 基因的片段复制事件; 利用 GSDS 2.0 服务器分析基因外显子/内含子结构; 采用 MEGA7 软件极大似然法构建系统发育树; 利用芯片数据分析基因在不同组织器官中的表达模式。[结果] 玉米基因组中含有 6 个 *MAN* 基因, 分布于 5 条染色体上。没有玉米 *MAN* 基因起源于片段复制或串联重复事件。系统发育分析将植物 *MAN* 蛋白分为 3 个亚族 (I~III), 说明其序列已发生分化。玉米 *MAN* 基因结构较为保守, 蛋白质均含有甘露聚糖酶的核心基序。玉米 *MAN* 基因具有不同的表达模式, 部分基因在发育叶片中表达量较高, 部分基因在减数分裂期雄穗中表达量较高, 而其余基因在胚芽鞘、初生根、授粉前果穗、花丝和发育种子中表达量较高。[结论] 该研究结果为进一步研究玉米 *MAN* 基因功能奠定了基础。

关键词 玉米; 甘露聚糖酶; 基因家族; 进化分析; 表达分析

中图分类号 S 188⁺.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)16-0093-04

Bioinformatics Analysis of the β -Mannanase Gene Family in Maize

GAO Qing-song, SUN Hui, CHEN Guo-chong et al (Jiangsu Collaborative Innovation Center of Regional Modern Agriculture and Environmental Protection/Jiangsu Key Laboratory for Eco-Agricultural Biotechnology around Hongze Lake, College of Life Science, Huaiyin Normal University, Huai'an, Jiangsu 223300)

Abstract [Objective] To identify β -mannanase genes (*MAN*) in maize and analyze their evolutionary mechanisms and expression profiles. [Method] The protein sequences of Arabidopsis *MANs* were used to search the Maize Genetics and Genomics and NCBI non-redundant protein databases to identify all maize *MAN* genes. The segmental duplication events of maize *MAN* genes were retrieved in the Plant Genome Duplication Database. The GSDS 2.0 server was used to analyze the exon/intron structures of genes. The phylogenetic tree was constructed using MEGA7 with a maximum likelihood method. The expression profiles of maize *MAN* genes were examined using microarray data. [Result] The maize genome contains six *MAN* genes, which are distributed on five chromosomes. No maize *MAN* genes were found to originate through segmental or tandem duplication events. Phylogenetic analysis divided plant *MAN* proteins into three subfamilies (I-III), suggesting that their sequences have diverged. The structures of maize *MAN* genes are relatively conserved, and their encoding proteins all have the core motifs for mannanase activity. Maize *MAN* genes have distinct expression patterns; some of them have higher expressions in developing leaves, some in meiotic tassels, while others in coleoptiles, primary roots, pre-pollination cobs, silks and developing seeds. [Conclusion] These results lay a solid foundation for further functional analysis of maize *MAN* genes.

Key words Maize; Mannanase; Gene family; Evolutionary analysis; Expression analysis

植物细胞壁由纤维素、半纤维素和果胶等多糖及蛋白质组成。细胞壁降解在植物种子萌发、叶片形成、花发育、果实成熟等生长发育过程及环境应答中发挥重要作用^[1]。甘露聚糖是由甘露糖通过 β -1,4-糖苷键连接而成的线状多糖。如果主链中的部分甘露糖残基被葡萄糖取代, 或者甘露糖残基上连有半乳糖, 则形成异甘露聚糖, 包括葡甘露聚糖、半乳甘露聚糖和半乳葡甘露聚糖^[2]。甘露聚糖和异甘露聚糖是构成植物半纤维素的第二大组分^[3-4]。这些物质的分解主要依靠 β -甘露聚糖酶 (Endo- β -Mannanase, *MAN*) 完成。*MAN* 在细菌、真菌和植物中均能合成。根据糖类活性酶数据库 (CAZY) 的分类, *MAN* 属于糖基水解酶超家族中的家族 5 和 26, 而在植物中合成的 *MAN* 均属于家族 5^[5]。由于 *MAN* 具有较高的工业、食品以及医药方面的应用价值, 且其在微生物中来源丰富、活性高、提取方便, 因此研究多集中在酶的微生物生产以及基因工程改造等方面^[6], 而在植物中的报道相对较少。

植物中首个 *MAN* 基因 *LeMAN1* 是从番茄种子中分离出来的, 主要在萌发后种子的胚乳中表达, 可能通过分解胚乳细胞壁中半乳甘露聚糖为幼苗生长提供营养^[7]。随后, 在番茄中又分离出 4 个 *MAN* 基因 *LeMAN2*、*LeMAN3*、*LeMAN4* 和 *LeMAN5*^[8-9]。其中, *LeMAN2* 和 3 也主要在萌发种子中表达; *LeMAN4* 主要在番茄果实中表达, 参与果实的成熟; *LeMAN5* 主要在花药和花粉中表达, 参与花药和花粉的发育^[9-10]。拟南芥和水稻基因组中分别含有 8 个和 9 个 *MAN* 基因, 分别命名为 *AtMAN1*~*AtMAN7* 和 *AtMANP* 以及 *OsMAN1*~*OsMAN8* 和 *OsMANP*^[11]。其中, 拟南芥 *AtMAN3* 和 4 主要在角果中表达, *AtMAN2*、5、6 和 7 在根、茎、叶、角果和种子中均有表达, *AtMAN1* 在各组织器官中表达量很低, 而 *AtMANP* 被证实为假基因^[12]。*AtMAN5*、6 和 7 基因的敲除突变体种子萌发速度显著变缓^[12]。水稻 *OsMAN1*、2、4、6 和 8 基因在根、茎、叶片和种子中均有表达, *OsMAN3* 和 *OsMANP* 特异地在种子中表达, 而 *OsMAN5* 和 7 在各组织器官中均未检测到表达^[11]。此外, 杨树基因组含有 8 个 *MAN* 基因^[11]。其中, *PtMAN4*、6 和 8 在分化的木质部组织中特异表达, *PtMAN5* 在木质部、韧皮部和叶片中均有表达, *PtMAN7* 主要在幼叶和叶尖中表达, 而其他基因在上述组织中未检测到表达^[13]。过表达 *PtMAN6* 导致杨树细胞壁松弛, 并抑制木质部次生细胞壁增厚, 而下

基金项目 江苏省自然科学基金项目 (BK20160429); 江苏省大学生实践创新训练计划项目 (201610323048X); 江苏省高校自然科学研究面上项目 (16KJB210001); 江苏高校品牌专业建设工程资助项目 (PPZY2015A018)。

作者简介 高清松 (1982—), 男, 江苏靖江人, 副教授, 博士, 从事植物分子遗传研究。高清松和孙辉为共同第一作者。

收稿日期 2018-03-27; 修回日期 2018-04-02

调其表达则促进次生细胞壁增厚^[13]。进一步分析发现, Pt-MAN6 降解作用产生的寡糖作为重要的信号分子发挥作用。

玉米是我国第一大粮食作物。虽然 MAN 基因在番茄、水稻、拟南芥、杨树等植物中已有报道,但在重要作物玉米中的成员及其功能还不清楚。笔者采用生物信息学方法对玉米基因组中的 MAN 基因进行系统鉴定,并对其进化机制和表达模式进行分析,旨在为玉米 MAN 基因的功能研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 玉米 MAN 基因的鉴定

以拟南芥中 8 个 MAN 蛋白的氨基酸序列作为查询序列,在玉米遗传学和基因组学数据库 (MaizeGDB, <https://www.maizegdb.org/>) 以及 NCBI 非冗余蛋白质数据库中进行 BlastP 比对搜索,获取候选序列,阈值设定为 $E \leq 10^{-10}$ 。将候选序列输入 Pfam 数据库 (<http://pfam.xfam.org/>) 验证是否存在糖基水解酶家族 5 结构域 (获取号: PF00150), 如果存在,则认为属于 MAN 家族。去除不完整序列和冗余序列,下载其余序列的座位号、基因组位置等信息。利用 ProtParam 工具 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 计算蛋白质等电点和分子量,利用 TargetP (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TargetP/>) 进行蛋白质亚细胞定位预测。

1.2 染色体分布、基因复制和基因结构分析

利用 MapChart 软件绘制染色体分布图。通过检索植物基因组复制数据库 (PGDD, <http://chibba.agtec.uga.edu/duplication/index/locus>) 查找玉米 MAN 基因的片段复制事件。利用 GSDS 2.0 服务器 (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>) 分析玉米 MAN 基因的

外显子/内含子结构。

1.3 蛋白质系统发育和保守序列分析

利用 ClustalW 工具进行蛋白质多序列比对,采用 MEGA7 软件极大似然法基于 JTT 模型构建系统发育树^[14],gap 处理设置为 partial deletion,位点覆盖阈值设定为 95%。Bootstrap 重抽样进行了 100 次。利用 MEME 程序 (<http://meme-suite.org/tools/meme>) 预测玉米 MAN 蛋白的保守基序,采用 InterProScan 工具 (<http://www.ebi.ac.uk/interpro/search/sequence-search>) 对基序序列做进一步注释。

1.4 基因表达分析

从植物表达数据库 (PLEXDB, <http://www.plexdb.org/>) 下载利用 Nimblegen 玉米全基因组芯片平台生产的玉米 B73 全生育期基因表达数据,从中检索玉米 MAN 基因的表达值,利用 Cluster 3.0 软件完全连锁法对平均表达值进行层级聚类,绘制基因表达热图。

2 结果与分析

2.1 玉米 MAN 基因的鉴定

利用拟南芥 MAN 蛋白序列在 MaizeGDB 和 NCBI 非冗余蛋白质数据库中比对搜索,共鉴定出玉米基因组中 6 个 MAN 基因。根据基因在染色体上的位置系统命名为 *ZmMAN1*~*ZmMAN6* (表 1)。所有玉米 MAN 基因均有 EST 记录支持,表明它们均是表达的基因。玉米 MAN 蛋白的长度为 314~470 aa,等电点为 5.4~10.8,蛋白质分子量为 35 291.3~52 465.3 Da (表 1)。蛋白质亚细胞定位预测表明,多数玉米 MAN 蛋白为分泌蛋白,与其他植物 MAN 蛋白的定位一致^[11,13]。

表 1 玉米 MAN 基因的基本信息

Table 1 Basic information of maize MAN genes

基因名 Gene name	座位号 Locus	染色体 Chromosome	外显子数 Exon No.	蛋白质长度 Protein length aa	等电点 PI	分子量 Molecular weight Da	亚细胞定位 Subcellular localization	探针号 Probe
<i>ZmMAN1</i>	GRMZM2G051534	2	5	427	5.4	47 822.2	叶绿体	GRMZM2G051534_T01
<i>ZmMAN2</i>	GRMZM2G140201	3	5	453	7.0	50 935.7	分泌蛋白	GRMZM2G140201_T01
<i>ZmMAN3</i>	GRMZM2G055585	3	4	426	9.3	45 577.2	分泌蛋白	GRMZM2G055585_T02
<i>ZmMAN4</i>	GRMZM2G356046	4	4	388	10.8	42 818.6	分泌蛋白	GRMZM2G356046_T01
<i>ZmMAN5</i>	GRMZM2G471065	6	5	470	6.6	52 465.3	线粒体	GRMZM2G471065_T02
<i>ZmMAN6</i>	GRMZM2G110993	9	5	314	8.9	35 291.3	分泌蛋白	GRMZM2G110993_T01

2.2 玉米 MAN 基因的染色体分布和蛋白质系统发育分析

玉米 MAN 基因分布于 5 条染色体上,其中 3 号染色体含有 2 个基因,其余染色体均含有 1 个基因 (图 1)。基因复制分析表明,没有基因起源于片段复制事件。此外,玉米 MAN 基因在染色体上相距较远,也不是起源于串联重复事件。转录方向分析表明,有 2 个基因 (*ZmMAN2* 和 3) 为反向转录,其余基因均为正向转录 (图 1)。

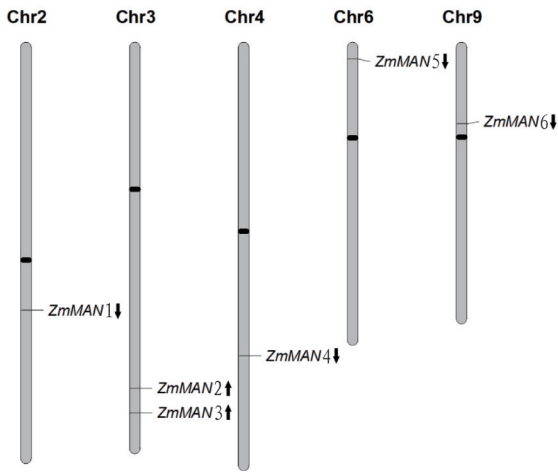
为研究植物 MAN 蛋白的进化历史与机制,对番茄、拟南芥、杨树、水稻和玉米 MAN 蛋白共 36 条序列构建系统发育树。结果表明,植物 MAN 蛋白可以分为 3 个亚族 (I~III, 图 2),说明该家族蛋白的序列和功能可能已经发生分化;每个

亚族均含有单、双子叶植物序列,说明该家族的基本特征在单、双子叶植物分化之前就已经建立。在系统发育树的末端各发现了 2 对番茄、拟南芥、杨树和拟南芥同源基因,说明该家族在这些物种中以物种特异的方式进行了扩张。玉米 MAN 蛋白在 3 个亚族中均有分布,但未发现旁系同源基因。所有番茄 MAN 蛋白均位于亚族 I 中。

2.3 玉米 MAN 基因结构和蛋白质保守序列分析

通过将玉米 MAN 基因的 cDNA 序列与基因组序列比较确定基因的外显子/内含子结构。除 *ZmMAN3* 和 4 基因含有 4 个外显子之外,其余基因均含有 5 个外显子 (图 3)。*ZmMAN6* 含有较大的内含子。内含子相位分析表明,亚族 II 基因具有相同的

内含子相位,而其余亚族基因的内含子相位均不保守。



注:箭头表示转录方向

Note: Arrowheads show transcription directions

图1 玉米 MAN 基因的染色体分布

Fig.1 Chromosome distribution of maize MAN genes

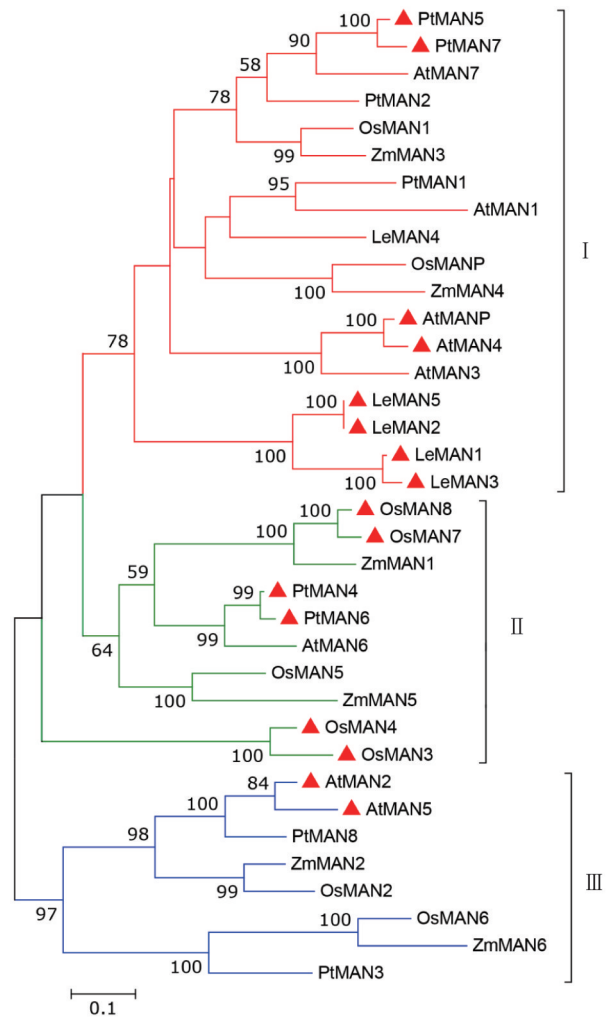
蛋白质保守序列分析共鉴定出玉米 MAN 蛋白中 8 个保守的基序(图 4)。其中,ZmMAN4 不含基序 6 和 8,ZmMAN5 不含基序 6,ZmMAN6 不含基序 8,其余蛋白均含有 8 个基序。通过在 InterPro 数据库中检索,对基序序列做进一步分析。结果表明,基序 1、2、4、5 和 7 为甘露聚糖酶活性的核心基序;基序 3 属于未命名蛋白家族(获取号:PTHR31451);基序 6 和 8 为糖基水解酶家族的共有基序。

2.4 玉米 MAN 基因表达模式分析 为研究玉米 MAN 基因的功能,利用芯片数据详细分析了基因在 20 个组织中的表达模式,结果表明,玉米 MAN 基因的表达已经发生了显著的分化(图 5)。其中,ZmMAN1 在发育叶片中的表达量较高,而在茎秆和授粉 24 d 后胚乳中表达量较低;ZmMAN4 和 5 在减数分裂期雄穗中表达量较高;ZmMAN2 在胚芽鞘、初生根、授粉前果穗和授粉 4 d 后的种子中表达量较高,而在萌发种子、发育中的叶片、花药和授粉 24 d 后的胚乳中表达量较低;ZmMAN3 在幼叶、花丝、授粉 4 d 和 12 d 后的种子中表达量较高;ZmMAN6 在 9 叶期叶片、授粉前果穗、花丝和授粉 4 d 后种子中表达量较高,而在萌发种子和授粉 24 d 后胚乳中表达量较低。值得注意的是,基于基因表达模式的聚类结果与系统发育树的亚族划分并不一致,说明氨基酸序列的相似性不能完全反映基因表达模式的相似。

3 结论与讨论

甘露聚糖是组成植物细胞壁的重要半纤维素多糖。MAN 通过水解甘露聚糖使细胞壁松弛,在植物分生组织生长、果实成熟、程序性细胞死亡以及种子萌发等过程中发挥重要功能^[5]。该研究采用生物信息学方法鉴定出玉米基因组中 6 个 MAN 基因,分布于 5 条染色体上。这些基因的外显子/内含子结构相对保守,并且编码蛋白都含有甘露聚糖酶的核心基序,但基因的表达模式已经发生了显著的分化。这些结果为玉米 MAN 基因的进一步功能研究奠定了基础。

基因复制是植物基因家族进化的重要动力。基因复制



注:比例尺表示每个位点 0.1 个氨基酸替代;红色三角形代表旁系同源基因

Note: Scale bar denotes 0.1 amino acid substitutions per site; red triangles represent paralogous genes

图2 植物 MAN 蛋白系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree of plant MAN proteins

可以通过片段复制、串联重复和逆转录转座等方式产生^[15]。玉米基因组中含有 6 个 MAN 基因。基因复制分析表明,没有玉米 MAN 基因起源于片段复制或串联重复事件,这可能是复制后基因丢失的结果。另一方面,由于玉米基因组的注释还不够完善,可能部分基因未被注释出来。近来研究表明,禾本科植物二穗短柄草基因组也含有 6 个 MAN 基因,并且没有基因起源于复制事件^[16]。

拟南芥、水稻和杨树 MAN 基因的外显子/内含子结构分析表明,多数基因含有 5 个外显子,说明该结构是植物 MAN 基因的典型结构,可能来自于共同的祖先基因^[11]。此外,虽然植物 MAN 基因的内含子位置相对保守,但同一内含子的大小在不同基因之间变化较大。该研究中多数玉米 MAN 基因含有 5 个外显子,且外显子大小相对保守,但部分基因的内含子大小变异较大(图 3),与其他植物中的研究一致。蛋白质保守基序分析表明,玉米 MAN 蛋白均含有甘露聚糖酶催化的核心基序,表明它们可能都是有活性的甘露聚糖酶。

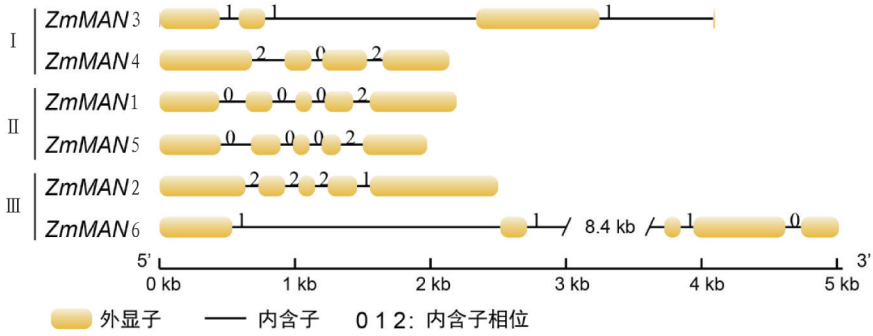
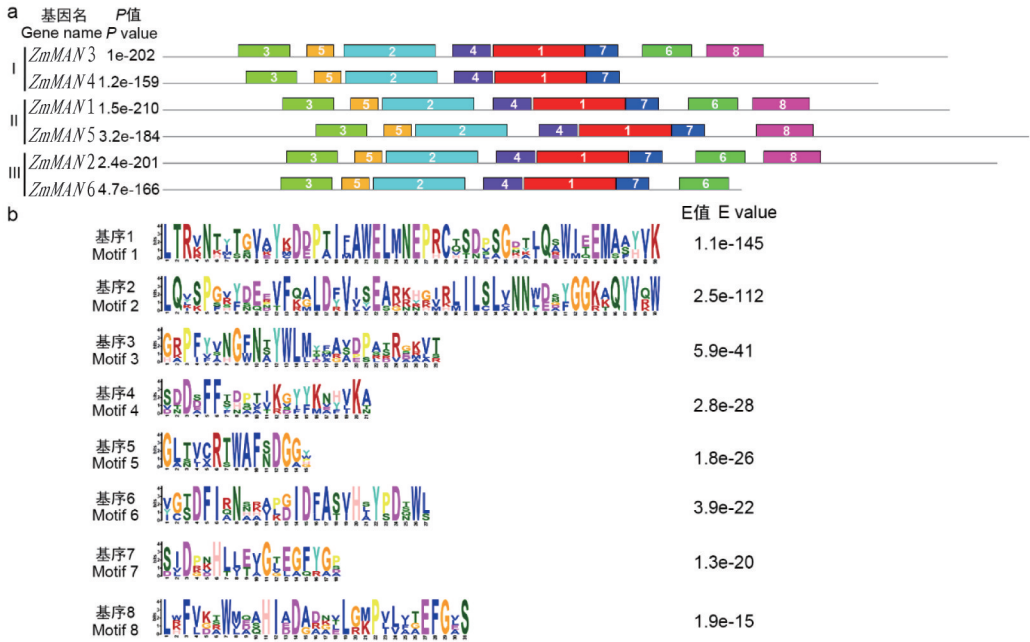


图3 玉米 MAN 基因的外显子/内含子结构

Fig.3 Exon/intron structures of maize MAN genes

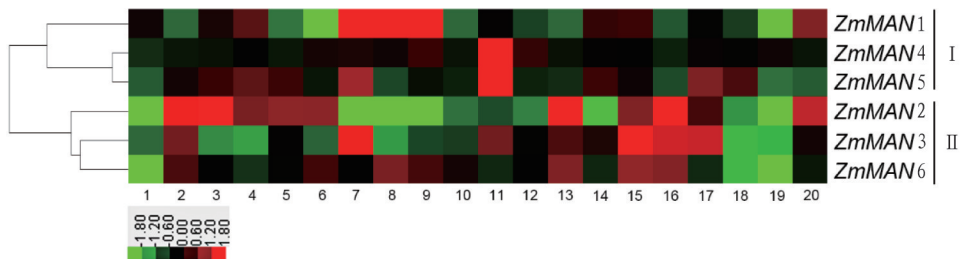


注:a 为玉米 MAN 蛋白基序分布;b 为不同基序的序列标识

Note:a.Motif distribution in maize MAN proteins;b.Sequence logos of motifs

图4 玉米 MAN 蛋白的保守基序

Fig.4 Conserved motifs identified in maize MAN proteins



注:1.吸水 24 h 种子;2.胚芽鞘;3.初生根;4.营养生长期根;5.3 叶期茎;6.9 叶期茎;7.幼叶;8.9 叶期叶片;9.生殖生长期叶片;10.未成熟雄穗;11.减数分裂期雄穗;12.未成熟果穗;13.授粉前果穗;14.花药;15.花丝;16.授粉 4 d 后种子;17.授粉 12 d 后种子;18.授粉 24 d 后种子;19.授粉 24 d 后胚乳;20.授粉 24 d 后胚。彩色标尺表示 Z-score 值

Note:1.Seed 24 h after imbibition; 2.Coleoptile; 3.Primary root; 4.Root at vegetative period; 5.Stem at three-leaf stage; 6.Stem at nine-leaf stage; 7. Seedling leaf; 8.Leaf at nine-leaf stage; 9.Leaf at reproductive period; 10.Immature tassel; 11.Meiotic tassel; 12.Immature cob; 13.Pre-pollination cob; 14.Anthers; 15.Silks; 16.Seed 4 days after pollination (DAP); 17.Seed 12 DAP; 18.Seed 24 DAP; 19.Endosperm 24 DAP; 20.Embryo 24 DAP.The color key represents Z-score values

图5 玉米 MAN 基因在不同组织器官中的表达模式

Fig.5 Expression profiles of maize MAN genes in different tissues and organs

参考文献

- [1] 杨金燕, 苟敏. 中国土壤氟污染研究现状[J]. 生态环境学报, 2017, 26(3): 506-513.
- [2] KEBEDE A, RETTA N, ABUYE C, et al. Dietary fluoride intake and associated skeletal and dental fluorosis in school age children in rural Ethiopian Rift Valley[J]. Int J Environ Res Public Health, 2016, 13(8): 756.
- [3] ZOHOORI F V, MAGUIRE A. Development of a database of the fluoride content of selected drinks and foods in the UK[J]. Caries Res, 2016, 50(3): 331-336.
- [4] 王凌霞. 茶园土壤氟的形态分布特征及降低水溶态氟措施研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.
- [5] 阮建云, 杨亚军, 马立锋. 茶叶氟研究进展: 累积特性、含量及安全性评价[J]. 茶叶科学, 2007, 27(1): 1-7.
- [6] 中国环境监测总站. 中国土壤元素背景值[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990: 188-230.
- [7] 李思亮, 杨斌, 陈燕, 等. 浙江省铅锌矿区土壤重金属污染及重金属超富集植物筛选[J]. 环境污染与防治, 2016, 38(5): 48-54.
- [8] DANH L T, TRUONG P, MAMMUCARI R, et al. Vetiver grass, *Vetiveria zizanioides*: A choice plant for phytoremediation of heavy metals and organic wastes[J]. International journal of phytoremediation, 2009, 11(8): 664-691.
- [9] 吴代赦, 吴铁, 董瑞斌, 等. 植物对土壤中氟吸收、富集的研究进展[J]. 南昌大学学报(工科版), 2008, 30(2): 103-111.
- [10] 王茜, 石瑛, 张猛, 等. 氟化物的危害及植物去氟作用研究进展[J]. 现代农业科技, 2012(7): 271-273.
- [11] 颜洪涛, 顾沈华, 刘丽月, 等. 湖北 52 种景观树种对大气硫、氟污染物吸收富集能力研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2017, 25(5): 456-464.
- [12] 吴慧梅, 李非里, 牟华倩, 等. 两步连续提取法测定植物中重金属的形态[J]. 环境科学与技术, 2012, 35(7): 133-137.
- [13] 秦樊鑫, 吴迪, 黄先飞, 等. 高氟病区茶园土壤氟形态及其分布特征[J]. 中国环境科学, 2014, 34(11): 2859-2865.
- [14] YANG Y, LIU Y, HUANG C F, et al. Aluminium alleviates fluoride toxicity in tea (*Camellia sinensis*) [J]. Plant and soil, 2016, 402(1/2): 179-190.
- [15] CAI H M, DONG Y Y, LI Y Y, et al. Physiological and cellular responses to fluoride stress in tea (*Camellia sinensis*) leaves[J]. Acta Physiol Plant, 2016, 38(6): 1-11.
- [16] 彭传燧, 陈静, 蔡荟梅, 等. 茶树对氟的吸收动力学特性研究[J]. 热带作物学报, 2013, 34(3): 495-500.
- [17] 杨晓, 张月华, 余志, 等. 氟对茶树生理的影响及茶树耐氟机制研究进展[J]. 华中农业大学学报, 2015, 34(3): 142-146.
- [18] 贾陈忠, 李克华, 秦巧燕. 热电厂附近大气、树叶和土壤中氟含量的关系研究[J]. 长江大学学报(自科版), 2005, 2(11): 80-82.
- [19] 孙方强. 成都土壤中氟的形态特征研究[J]. 科技信息, 2011(19): 470, 431.
- [20] 于群英, 慈恩, 杨林章. 皖北地区土壤中不同形态氟含量及其影响因素[J]. 应用生态学报, 2007, 18(6): 1333-1340.
- [21] 李士杏, 骆永明, 章海波, 等. 不同性质铁铝土对砷酸根吸附特性的比较研究[J]. 土壤学报, 2012, 49(3): 474-480.
- [22] 于群英, 李孝良, 汪建飞, 等. 安徽省土壤氟含量及其赋存特征[J]. 长江流域资源与环境, 2013, 22(7): 915-921.
- [23] LI Y P, WANG S L, PRETE D, et al. Accumulation and interaction of fluoride and cadmium in the soil-wheatplant system from the wastewater irrigated soil of an oasis region in northwest China[J]. Science of the total environment, 2017, 595: 344-351.
- (上接第 96 页)
- 甘露聚糖存在于植物的各种组织中, 如在拟南芥中整株都有分布, 但在花、角果和茎秆中含量更为丰富^[17]。其在植物细胞壁中的功能一方面通过与纤维素结合发挥支撑作用, 另一方面在胚乳细胞壁以及种子和营养组织的液泡中作为非淀粉碳水化合物储藏^[2]。MAN 是催化甘露聚糖骨架水解的关键酶^[3]。基因表达模式分析表明, 水稻、拟南芥和杨树 MAN 基因的表达已经发生了显著的分化。部分基因在各组织器官中呈组成型表达, 部分基因在角果、种子或木材木质部中特异表达。这些结果表明, 植物 MAN 基因可能在不同的生物过程中发挥功能^[11]。该研究中玉米 MAN 基因的表达也已发生分化, 部分基因在发育叶片中表达量较高, 部分基因在减数分裂期雄穗中表达量较高, 而另外一些基因在胚芽鞘、初生根、授粉前果穗、花丝和发育种子中表达量较高, 说明玉米 MAN 基因可能在不同组织细胞壁甘露聚糖的降解中发挥作用。此外, 系统发育分析将植物 MAN 蛋白分为 3 个不同的亚族, 说明其序列已经发生分化, 推测不同亚族的蛋白可能分解不同类型的甘露聚糖。进一步通过突变体和过表达分析将有助于阐明玉米 MAN 基因的生理功能。
- 参考文献
- [1] BRETT C T, WALDRON K W. Physiology and biochemistry of plant cell walls[M]. Dordrecht: Springer Netherlands, 1990: 168-179.
- [2] MOREIRA L R S, FILHO E X F. An overview of mannan structure and mannan-degrading enzyme systems[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2008, 79(2): 165-178.
- [3] SCHRÖDER R, ATKINSON R G, REDGWELL R J. Re-interpreting the role of endo- β -mannanases as mannan endotransglycosylase/hydrolases in the plant cell wall[J]. Ann Bot, 2009, 104(2): 197-204.
- [4] 龙健儿, 陈一平. β -甘露聚糖酶的研究现状[J]. 微生物学杂志, 1998, 18(3): 44-49, 57.
- [5] RODRÍGUEZ-GACIO M C, IGLESIAS-FERNÁNDEZ R, CARBONERO P, et al. Softening-up mannan-rich cell walls[J]. J Exp Bot, 2012, 63(11): 3976-3988.
- [6] 徐扬, 刘起丽, 聂国兴, 等. β -甘露聚糖酶的研究进展[J]. 河南农业科学, 2011, 40(4): 34-37.
- [7] BEWLEY J D, BURTON R A, MOROHASHI Y, et al. Molecular cloning of a cDNA encoding a (1 \rightarrow 4)- β -mannan endohydrolase from the seeds of germinated tomato (*Lycopersicon esculentum*) [J]. Planta, 1997, 203(4): 454-459.
- [8] NONOGAKI H, GEE O H, BRADFORD K J. A germination-specific endo- β -mannanase gene is expressed in the micropylar endosperm cap of tomato seeds[J]. Plant Physiol, 2000, 123(4): 1235-1245.
- [9] GONG X M, DEREK BEWLEY J. Sorting out the LeMANs: Endo- β -mannanase genes and their encoded proteins in tomato[J]. Seed Sci Res, 2007, 17(3): 143-154.
- [10] FILICHKIN S A, LEONARD J M, MONTEROS A, et al. A novel endo- β -mannanase gene in tomato *LeMAN5* is associated with anther and pollen development[J]. Plant Physiol, 2004, 134(3): 1080-1087.
- [11] YUAN J S, YANG X H, LAI J R, et al. The endo- β -mannanase gene families in *Arabidopsis*, rice, and poplar[J]. Funct Integr Genomics, 2007, 7(1): 1-16.
- [12] IGLESIAS-FERNÁNDEZ R, RODRIGUEZ-GACIO M C, BARRERO-SICILIA C, et al. Three endo- β -mannanase genes expressed in the micropylar endosperm and in the radicle influence germination of *Arabidopsis thaliana* seeds[J]. Planta, 2011, 233(1): 25-36.
- [13] ZHAO Y J, SONG D L, SUN J Y, et al. Populus endo- β -mannanase PtrMAN6 plays a role in coordinating cell wall remodeling with suppression of secondary wall thickening through generation of oligosaccharide signals[J]. Plant J, 2013, 74(3): 473-485.
- [14] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Mol Biol Evol, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [15] KONG H Z, LANDHERR L L, FROHLICH M W, et al. Patterns of gene duplication in the plant SKP1 gene family in angiosperms: Evidence for multiple mechanisms of rapid gene birth[J]. Plant J, 2007, 50(5): 873-885.
- [16] GONZÁLEZ-CALLE V, BARRERO-SICILIA C, CARBONERO P, et al. Mannans and endo- β -mannanases (MAN) in *Brachypodium distachyon*: Expression profiling and possible role of the *BdMAN* genes during coleorhiza-limited seed germination[J]. J Exp Bot, 2015, 66(13): 3753-3764.
- [17] LIEPMAN A H, NAIRN C J, WILLATS W G, et al. Functional genomic analysis supports conservation of function among cellulose synthase-like a gene family members and suggests diverse roles of mannans in plants[J]. Plant Physiol, 2007, 143(4): 1881-1893.