

doi:10.3969/j.issn.1672-5565.2016.03.04

茉莉酸信号受体 COI 蛋白家族的分子进化与基因表达分析

段龙飞^{1,3}, 李文燕^{2,3*}, 慕小倩³, 张园园¹, 郭邦利¹, 陈国爱¹

(1.安康市农业科学研究所,陕西 安康 725021;

2.广东省农业科学院农业生物基因研究中心,广州 510640;

3.西北农林科技大学生命科学院,陕西 杨凌 712100)

摘要:茉莉酸(Jasmonic acid, JA)存在于所有高等植物中,是植物对病原微生物和虫害防御反应的关键激素。在茉莉酸信号转导中,COI1(COR-insensitive 1)作为茉莉酸信号受体蛋白在其中发挥关键作用。本研究采用生物信息学方法,从藻类、苔藓类、蕨类、裸子及单、双子叶植物多谱系对 COI 蛋白家族进行比较基因组学研究,并取得以下结果:(1)同源基因鉴定结果发现,在所选的7种陆生植物中一共鉴定了55个COIs同源基因,然而,在低等的水生植物包括绿藻类(*Chlorophytes*)、红藻类(*Rhodophytes*)、硅藻类(*Bacillariophytes*)、灰胞藻类(*Glaucophytes*)及褐藻类(*Phaeophytes*)等基因组中均未发现其同源基因;(2)系统进化树分析表明,植物 COI 蛋白家族可以分为4个保守的亚家族,且在陆生植物扩增的同时可能已发生功能分化;(3)基因结构分析显示,植物 COI 家族基因结构表现多样性,主要体现在内含子的数目和长度上;(4)基因表达数据提示,COI 基因家族成员参与植物生长发育的多个时期,且在不同组织器官以及不同的胁迫应答反应中发挥不同的作用。以上结果将为植物 COI 基因家族的深入研究提供参考。

关键词:茉莉酸信号;COI 蛋白家族;系统发育;扩增与进化;基因表达

中图分类号:Q344+.13 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-5565(2016)03-146-10

Molecular evolution and gene expression of Jasmonic acid receptor COI protein family

DUAN Longfei^{1,3}, LI Wenyan^{2,3*}, MU Xiaoqian³, ZHANG Yuanyuan¹, GUO Bangli¹, CHEN Guoai¹

(1. Institute of Agricultural Sciences of Ankang, Ankang Shaanxi 725021, China;

2. Agro-biological Gene Research Center, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China;

3. College of Life Sciences, Northwest A & F University, Yangling Shaanxi 712100, China)

Abstract: Jasmonic acid as a plant hormone, which is important on pathogenic microorganisms and insect defense response in high plant. COI1 (COR-insensitive 1) as the receptor of JA signal, plays a key role in the signal transduction. Comparative genomic analysis was performed to investigate the original and evolutionary relationship among COI paralogs in plants. The main results are as follows: (1) 55 COI homologs were identified from 7 representative terrestrial species. Moreover, there were no COI homologs in aquatic algae. Phylogenetic analysis revealed 4 well-conserved subfamilies in plants. Lineage-specific expansion and functional differentiation exists among COI gene family. (3) Exon-intron structure analysis revealed that the gene structures of COI gene family is diversity, which has a variable number and length of introns. (4) Gene data suggest that COI gene family is involved in plant growth and development, and play different roles in different tissues and stress response. We provide valuable information for investigating the COI protein family in plants.

Keywords: JA signaling pathway; COI gene family; Phylogenetic analysis; Expansion and evolution; Gene expression

收稿日期:2016-04-14;修回日期:2016-07-26.

基金项目:国家自然科学基金项目(31401300)和广东省自然科学基金项目(2015A030313572)。

作者简介:段龙飞,男,硕士,研究方向:基因家族进化;E-mail: duanlongfei88888@126.com.

* 通信作者:李文燕,男,博士,研究方向:作物逆境分子生物学;E-mail: Liwy1023@foxmail.com.

茉莉酸(Jasmonic acid, JA)是植物应对病虫害防御反应的关键激素,可以调控植物的生长发育、信号转导、基因表达以及应答外界刺激等^[1]。当植物受到一系列生物或非生物刺激时,茉莉酸信号途径上的关键基因就会激活并表达^[2]。在JA信号转导中需要多个基因的共同参与,而COI1/JAZ/MYC2则是其信号转导中最为核心的基因^[3]。COI1(COR-insensitive 1)作为茉莉酸信号的受体蛋白,在其中发挥关键作用^[4]。COI1(COR-insensitive1)受体蛋白可以与SKP1(S-phase kinase-associated protein 1)、CUL1(Cullin1)和RBX1(Ring-box1)组合并且形成SCF^{COI1}泛素连接酶复合体,进而参与介导JA信号^[5]。Xie等从拟南芥中分离到COI1基因,并证明COI1是F-box蛋白超家族成员,COI1蛋白功能缺失直接影响JA信号转导^[6]。随后,Sheard等揭示了COI1与JAZ蛋白相互作用的感受机制,并且构建了COI1蛋白的晶体结构;该结构与TIR1(生长素受体)结构相似。在其N端有一个三螺旋的F-box结构域,可以和SKP1蛋白结合形成SCF^{COI1}复合物,C端为LRRs结构域,可特异性识别底物^[7]。

目前,尽管对拟南芥AtCOI1基因进行生理生化等多方面的研究,然而,对COI基因家族在植物基因组中的进化规律仍不清楚。因此,本研究采用生物信息学方法,从藻类植物、苔藓植物、蕨类植物、裸子及单、双子叶植物等多谱系角度对COI基因家

族进行比较基因组学研究,揭示植物COI基因家族的起源与进化规律。

1 材料与方法

1.1 COI 家族同源基因的鉴定

采用HMMsearch和BLAST两种检索方法对植物COI家族同源基因进行检索。(1)HMMsearch检索结果如下:首先,利用已报道AtCOI1氨基酸序列进行BLASTp检索PLAZA数据库;其次,利用HMMER v3.0^[8]软件包的hmmbuild程序建立COI蛋白家族保守结构域序列HMMprofile;最后,利用hmmsearch程序在默认参数下进行本地非冗余蛋白数据库的检索。(2)本地BLAST检索方法如下:以拟南芥的AtCOI1氨基酸序列为靶序列,利用BioEdit v7.0软件中的BLASTp程序分别检索本地蛋白数据库(注:含有15种代表植物的非冗余蛋白序列,详见表1);同时,在线检索NCBI数据库[注:含绿藻类(*Chlorophyta*)、红藻类(*Rhodophytes*)、硅藻类(*Bacillariophytes*)、灰胞藻类(*Glaucoephytes*)以及褐藻类(*Phaeophytes*)等低等藻类植物]^[9]。(3)利用SMART数据库^[10]对HMMsearch和BLASTp检索所获得的COI同源候选蛋白进行结构域分析,并下载候选蛋白所对应基因序列和CDS序列进行基因结构分析^[11]。

表1 不同植物中COI同源基因及相关信息

Table 1 The COI gene family in different plants and the related information

物种	基因位点/蛋白序列号	基因命名	氨基酸长度
Bryophytes			
<i>Physcomitrella patens</i>	Pp1s277 20V6.1	<i>PpCOI1</i>	592
	Pp1s211 131V6.1	<i>PpCOI2</i>	593
	Pp1s24 60V6.1	<i>PpCOI3</i>	584
	Pp1s140 66V6.1	<i>PpCOI4</i>	615
	Pp1s187 72V6.1	<i>PpCOI5</i>	667
	Pp1s49 196V6.1	<i>PpCOI6</i>	693
	Pp1s12 347V6.1	<i>PpCOI7</i>	693
	Pp1s3 119V6.1	<i>PpCOI8</i>	626
	Pp1s44 198V6.1	<i>PpCOI9</i>	570
	Pp1s196 87V6.1	<i>PpCOI10</i>	567
	Pp1s16 2V6.1	<i>PpCOI11</i>	571
	Pp1s137 148V6.1	<i>PpCOI12</i>	570
	Lycophytes		
<i>Selaginella moellendorffii</i>	e gw1.0.2057.1	<i>SmCOI1</i>	565
	estExt Genewise1Plus.C 00049	<i>SmCOI2</i>	616
	gw1.87.87.1	<i>SmCOI3</i>	553
	e gw1.6.198.1	<i>SmCOI4</i>	572
	estExtGenewise1Plus.C130236	<i>SmCOI5</i>	600
	estExt Genewise1Plus.C 70352	<i>SmCOI6</i>	590
	e gw1.30.323.1	<i>SmCOI7</i>	509

续(表 1)

物种	基因位点/蛋白序列号	基因命名	氨基酸长度
Gymnosperms			
<i>Picea sitchensis</i>	ABR17804.1	<i>PsCOI1</i>	603
	ADE76203.1	<i>PsCOI2</i>	570
Monocots			
<i>Oryza sativa</i>	LOC_Os01g63420.1	<i>OsCOI1</i>	630
	LOC_Os05g37690.1	<i>OsCOI2</i>	597
	LOC_Os03g15880.1	<i>OsCOI3</i>	589
	LOC_Os04g32640.1	<i>OsCOI4</i>	575
	LOC_Os02g52230.1	<i>OsCOI5</i>	667
	LOC_Os11g27450.1	<i>OsCOI6</i>	1261
	LOC_Os11g31620.1	<i>OsCOI7</i>	568
	LOC_Os03g08850.1	<i>OsCOI8</i>	603
	LOC_Os05g05800.1	<i>OsCOI9</i>	594
	<i>Sorghum bicolor</i>	SB09G022040	<i>SbCOI1</i>
SB03G040150		<i>SbCOI2</i>	596
SB01G040110		<i>SbCOI3</i>	591
SB04G033850		<i>SbCOI4</i>	662
SB06G014420		<i>SbCOI5</i>	574
SB05G018860		<i>SbCOI6</i>	578
SB01G044720		<i>SbCOI7</i>	602
SB09G003870		<i>SbCOI8</i>	591
Eudicots			
<i>Arabidopsis thaliana</i>	AT2G39940.1 (COI1)	<i>AtCOI1</i>	592
	AT4G03190.1 (AFB1)	<i>AtCOI2</i>	585
	AT3G62980.1 (TIR1)	<i>AtCOI3</i>	594
	AT1G12820.1 (AFB3)	<i>AtCOI4</i>	577
	AT3G26810.1 (AFB2)	<i>AtCOI5</i>	575
	AT5G49980.1 (AFB5)	<i>AtCOI6</i>	619
	AT4G24390.1 (AFB4)	<i>AtCOI7</i>	623
	<i>Populus trichocarpa</i>	POPTR_0008s06460.1	<i>PtCOI1</i>
POPTR_0010s20030.1		<i>PtCOI2</i>	574
POPTR_0004s03400.1		<i>PtCOI3</i>	579
POPTR_0011s04200.1		<i>PtCOI4</i>	579
POPTR_0002s10310.1		<i>PtCOI5</i>	635
POPTR_0005s17580.1		<i>PtCOI6</i>	635
POPTR_0001s33030.1		<i>PtCOI7</i>	571
POPTR_0020s00280.1		<i>PtCOI8</i>	584
POPTR_0014s12930.1		<i>PtCOI9</i>	584
POPTR_0017s08860.1		<i>PtCOI10</i>	571

1.2 COI 基因家族系统发育树的构建

采用在线 EBI 中 Clustalw2 (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/>)^[12] 在默认参数下对 COI 同源蛋白序列进行序列比对; 然后, 利用在线 Gblock^[13] 对比对结果进行分析, 并选择序列保守区段; 最后, 利用 PhyML3.0 软件, 选择 Jones-Taylor-Thornton (JTT) 模型, bootstrap 检验选用 100 次重复, Maximum Likelihood^[14] 构建 COI 蛋白家族系统发育树^[15-17]。

1.3 COI 家族基因结构、定位及区段重复分析

利用基因结构系统 (Gene Structure Display Server, GSDS) 分析 COI 家族基因外显子-内含子的

分布及相位^[18]。利用 PLAZA 数据库 WGMapping 工具 (http://bioinformatics.psb.ugent.be/plaza/genoe_mapping/index) 对 COI 家族基因进行染色体定位。利用植物区段重复数据库 (Plant Genome Duplication Database, PGDD) 中 Locus-Search 在线工具 (<http://chibba.agtec.uga.edu/duplication/index/locus>) 对 COI 家族基因进行区段重复分析^[19]。

1.4 COI 家族基因组织和诱导表达谱分析

利用 Bio-Array Resource for Plant Biology (BAR) (<http://142.150.215.220/>) 数据库中的 Rice eFP Browser^[20] 和 Arabidopsis eFP Browser^[21] 网页工具, 对水稻和拟南芥 COI 家族基因进行分析, 查找的不

同发育时期以及诱导表达芯片数据^[22]。

2 结果与分析

2.1 COI 同源基因鉴定结果

通过 HMMsearch 和 BLAST 检索结果发现,在所选择的 7 种陆生植物中一共发现了 55 个 COIs 同源基因。然而,在绿藻类 (*Chlorophytes*)、红藻类 (*Rhodophytes*)、硅藻类 (*Bacillariophytes*)、灰胞藻类 (*Glaucophytes*)、及褐藻类 (*Phaeophytes*) 等基因组中均未发现 COI 同源基因。这表明,在低等的水生藻

类植物基因组中,COI 及其同源基因并未出现,见图 1。

此外,保守结构域分析表明(见图 2b),55 个陆生植物 COIs 同源基因保守结构域可分为四种类型。第一种含有典型的 F-box 和 LRR 结构域(*AtCOI2*、*AtCOI3* 和 *AtCOI5*);第二种类型仅含有典型的 F-box 结构域(*AtCOI4*);第三种类型仅含有典型的 LRR 结构域(*AtCOI6*);第四种类型既没有典型的 F-box 结构域,也没有典型的 LRR 结构域(*AtCOI1* 和 *AtCOI7*)。由此推测,COIs 蛋白家族结构域分化可能会产生功能的分化。

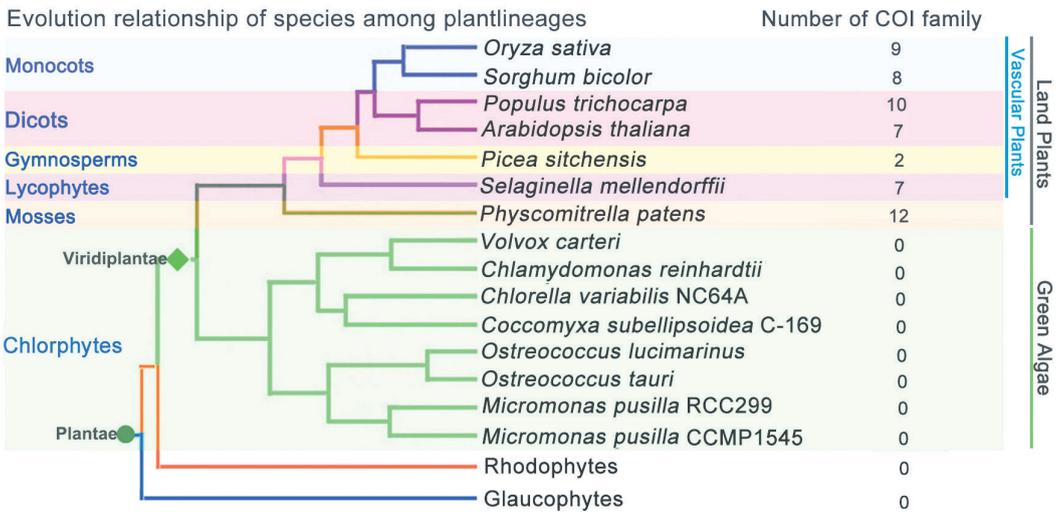


图 1 植物 COI 家族基因在不同植物中同源基因的拷贝数

Fig. 1 the number of COI homologue genes among different plant

2.2 COI 家族基因系统进化分析

为了探究 COI 家族基因的进化规律,本研究利用检索的 COI 同源蛋白序列构建系统进化树。根据 COI 家族进化树的拓扑结构,可分为 4 个亚家族,命名为 Subs.I~IV(见图 2a)。序列比对结果发现,*SmCOI7* 保守性较差,因此未包含于进化树。其中 Sub.I 和 Sub.III 两个亚家族包含了苔藓类、蕨类、裸子及单、双子叶植物的 COIs;Sub. II 中也有苔藓类、蕨类、单子叶及双子叶植物的 COIs;而 Sub.IV 只包含苔藓植物的 COIs,并且在进化树的最下端。与此同时,苔藓植物的 PpCOIs 也分布于其它三个亚家族 Subs. I~III。由此提示,植物 COI 家族基因可能最先起源于苔藓植物中,且在陆生植物中发生基因扩增后而形成多个 COI 亚家族。

进一步分析发现,Sub.I 亚家族的 *AtCOI3* 即 *AtTIR1* 是生长素信号途径的受体蛋白,该亚家族所包含的 COIs 基因可能是参与生长素信号途径的候选基因。而 Sub. III 亚家族中的 *AtCOI1* 是茉莉酸信号途径的受体蛋白,该亚家族中包含的 COIs 基因可

能是参与茉莉酸途径的候选基因。由此表明,植物 COI 家族在陆生植物发生扩增后形成的多个亚家族已开始发生功能分化。

2.3 COI 基因家族扩增与进化机制

COI 家族基因进行染色体定位结果发现(见图 3),在高粱、水稻、毛果杨和拟南芥染色体上均未发现串联重复现象。而利用 PDGG 数据库进行区段重复分析发现(见图 3),植物 COI 家族基因在进化过程中存在物种内区段重复,其中,在单子叶植物高粱基因组中有 1 对重复区段即 *SbCOI1/SbCOI2*;而双子叶植物拟南芥和毛果杨基因组中共存在 6 对区段重复即 *AtCOI4/AtCOI5*、*AtCOI6/AtCOI7*、*PtCOI3/PtCOI4*、*PtCOI5/PtCOI6*、*PtCOI8/PtCOI9* 和 *PtCOI7/PtCOI10*。

此外,在 COI 基因家族系统发育树中存在 11 对旁系同源基因,其中,苔藓类植物小立碗藓 4 对即 *PpCOI1/PpCOI2*、*PpCOI7/PpCOI8*、*PpCOI9/PpCOI11* 和 *PpCOI10/PpCOI12*。蕨类植物江南卷柏 1 对即 *SmCOI3/SmCOI4*,双子叶植物拟南芥和毛果杨共 6

对即 *AtCOI4/AtCOI5*、*AtCOI6/AtCOI7*、*PtCOI3/PtCOI4*、*PtCOI5/PtCOI6*、*PtCOI7/PtCOI10* 和 *PtCOI8/PtCOI9*。旁系同源基因主要发生在物种内的基因复制,因此,该结果提示 COI 家族基因在各个物种内可能发生了特异性的扩增。

2.4 COI 家族基因结构进化

基因结构分析显示(见图 2c),植物 COI 家族基因结构表现多样性,主要体现在内含子的数目和长度上。从内含子数目上发现,COI 家族基因的内含子数在 2~5 个之间,其中有 31 个 COIs 基因含有 2

个内含子,约占 59.6%,15 个 COIs 基因含有 3 个内含子,约占 28.8%,4 个 COIs 基因含有 4 个内含子,约占 7.7%,2 个 COIs 基因含有 5 个内含子,约占 3.8% (见图 2c);从内含子长度上发现,该家族最短的内含子仅有 47 bp(*SmCOI7* 的第三个内含子),而最长的内含子有 3236 bp(*OsCOI9* 基因的第一个内含子)。内含子数目和长度的变化提示,COI 家族基因在物种的进化过程中可能发生内含子的插入缺失。另外,鉴于裸子植物云杉(*Picea sitchensis*) 基因组尚未完成测序,故 PsCOIs 基因的结构未能确定。

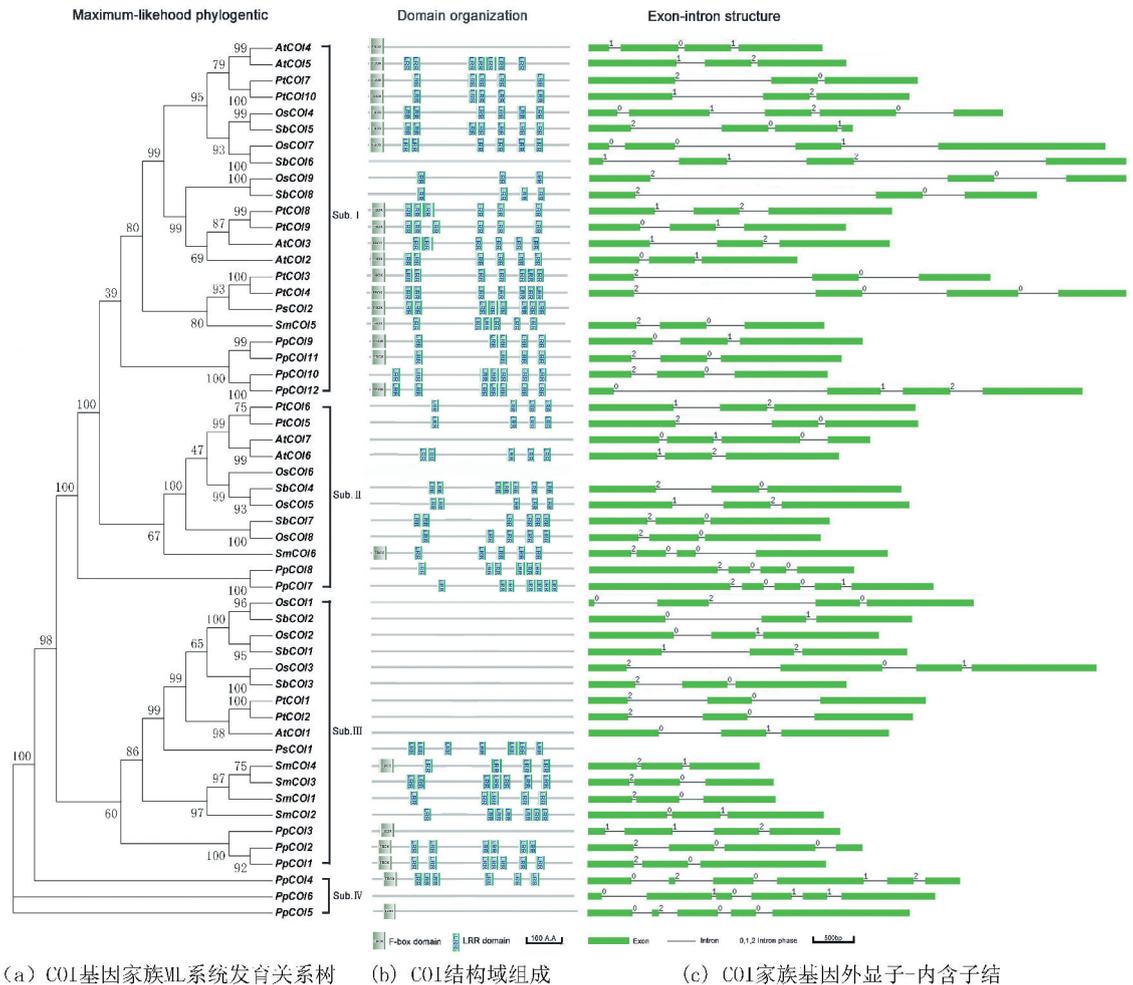


图 2 植物 COI 蛋白家族系统发育关系、保守结构域及基因结构*

Fig. 2 Phylogenetic relationship, domain organization and exon-intron structure of COI genes in plants

注: * 图中绿方框代表外显子,线条代表内含子;数字 0,1 和 2 分别代表内含子的相位。

* 彩图见电子版 (<http://swxxx.alljournals.cn/ch/index.aspx>) (2016 年第 3 期 doi:10.3969/j.issn.1672-5565.2016.03.04)。

进一步分析发现,苔藓类植物小立碗藓 *PpCOIs* 含有 2~5 个内含子,蕨类植物江南卷柏 *SmCOIs* 含有 2~3 个内含子,单子叶植物水稻 *OsCOIs* 和高粱 *SbCOIs* 含有 2~4 个内含子,双子叶植物拟南芥 *AtCOIs* 和毛果杨 *PtCOIs* 含有 2~3 个内含子。而 COI 家族基因中内含子的数目以 2 个或 3 个为主,约占 88%。结合系统进化树发现,苔藓植物的 *PpCOI4*

和 *PpCOI6* 都含有 5 个内含子,且位于进化树的最下端。由此提示,COI 基因家族在陆生植物发生扩增同时可能发生了内含子的丢失。

2.5 COI 基因家族不同发育时期和诱导表达结果分析

为了阐明 COI 基因家族在植物生长发育过程中可能存在的功能分化现象,我们对拟南芥和水稻基因芯片表达谱数据进行收集和分析。分析结果表

明,拟南芥的 7 个 *AtCOI*s 在不同组织器官中均有表达,但是表达量存在差异(见图 4)。其中 *AtCOI2* 根和花发育 12 期花瓣中的表达量明显高于其他家族成员;*AtCOI6* 在茎、叶和花发育 12 期心皮中的表达量也显著高于其他家族成员;*AtCOI3* 在干种子的表达量最高。不同胁迫条件下,拟南芥 *AtCOI*s 家族成员的表达量也存在差异,具体表现为,在冷胁迫下(见图 5a~b),拟南芥幼芽中 *AtCOI7* 表达量有所上调,其他 6 个 *AtCOI*s 表达量均表现为下调;在拟南

芥根中除 *AtCOI1* 表现为上调,其他 6 个 *AtCOI*s 表达量也表现为下调。在盐胁迫下(见图 5c~d),拟南芥幼芽中 *AtCOI2*、*AtCOI4* 和 *AtCOI5* 表达量明显下调,*AtCOI3*、*AtCOI6* 和 *AtCOI7* 表现为上调;而在拟南芥根中除了 *AtCOI3* 表达量上调,其他 6 个 *AtCOI*s 表达量均出现下调。在干旱胁迫下(见图 5e~f),拟南芥 *COI*s 幼芽和根中表达规律一致,其中 *AtCOI1*、*AtCOI2* 和 *AtCOI4* 表达量明显下调,*AtCOI3*、*AtCOI5*、*AtCOI6* 和 *AtCOI7* 表现为上调。

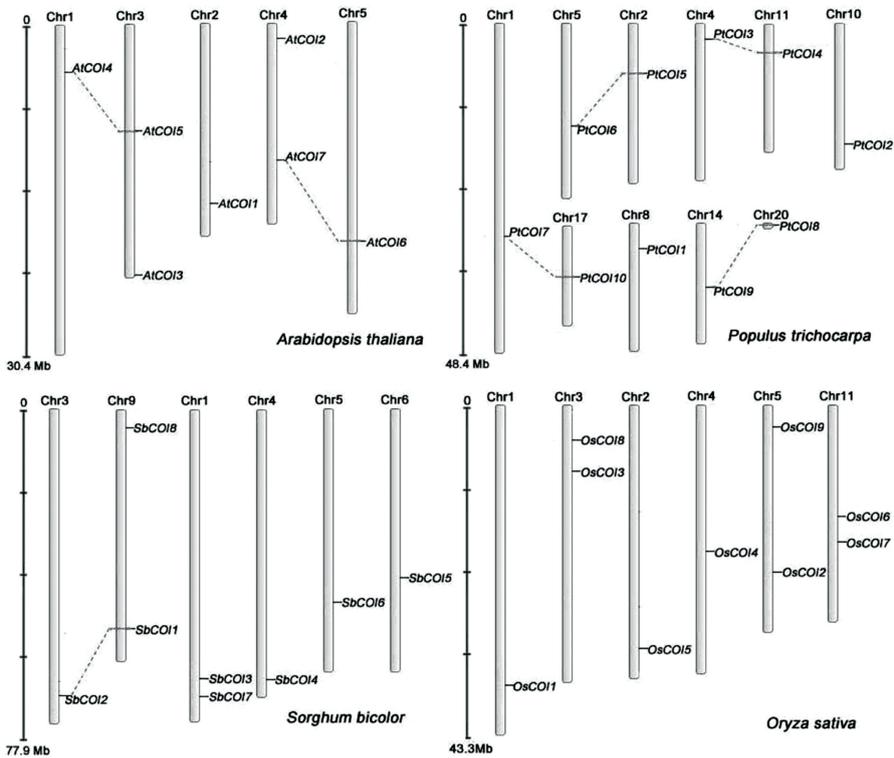


图 3 植物 COI 家族基因在染色体上的定位及物种内区段重复

Fig. 3 Chromosomal locations and intra-specie segmental duplications of COI family genes in monocots and eudicots

注:虚线表示在物种内的 COI 同源基因重复区段。

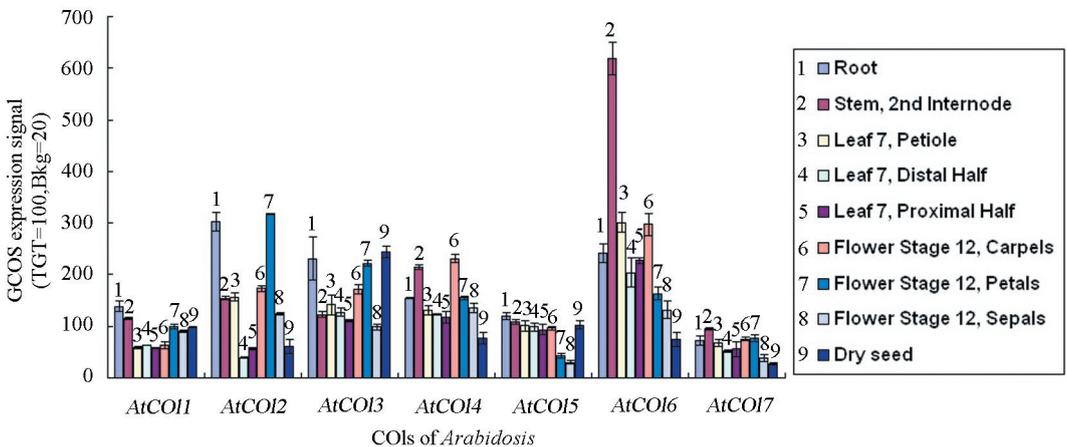


图 4 拟南芥 COI 家族基因在不同器官中的表达

Fig. 4 The expression profiles COI family genes among different organs in Arabidopsis

注:拟南芥的不同器官包括根、茎、第 7 叶(叶柄,叶近端半、叶远侧半)、花发育 12 期(萼片、花瓣、雄蕊)和种子。

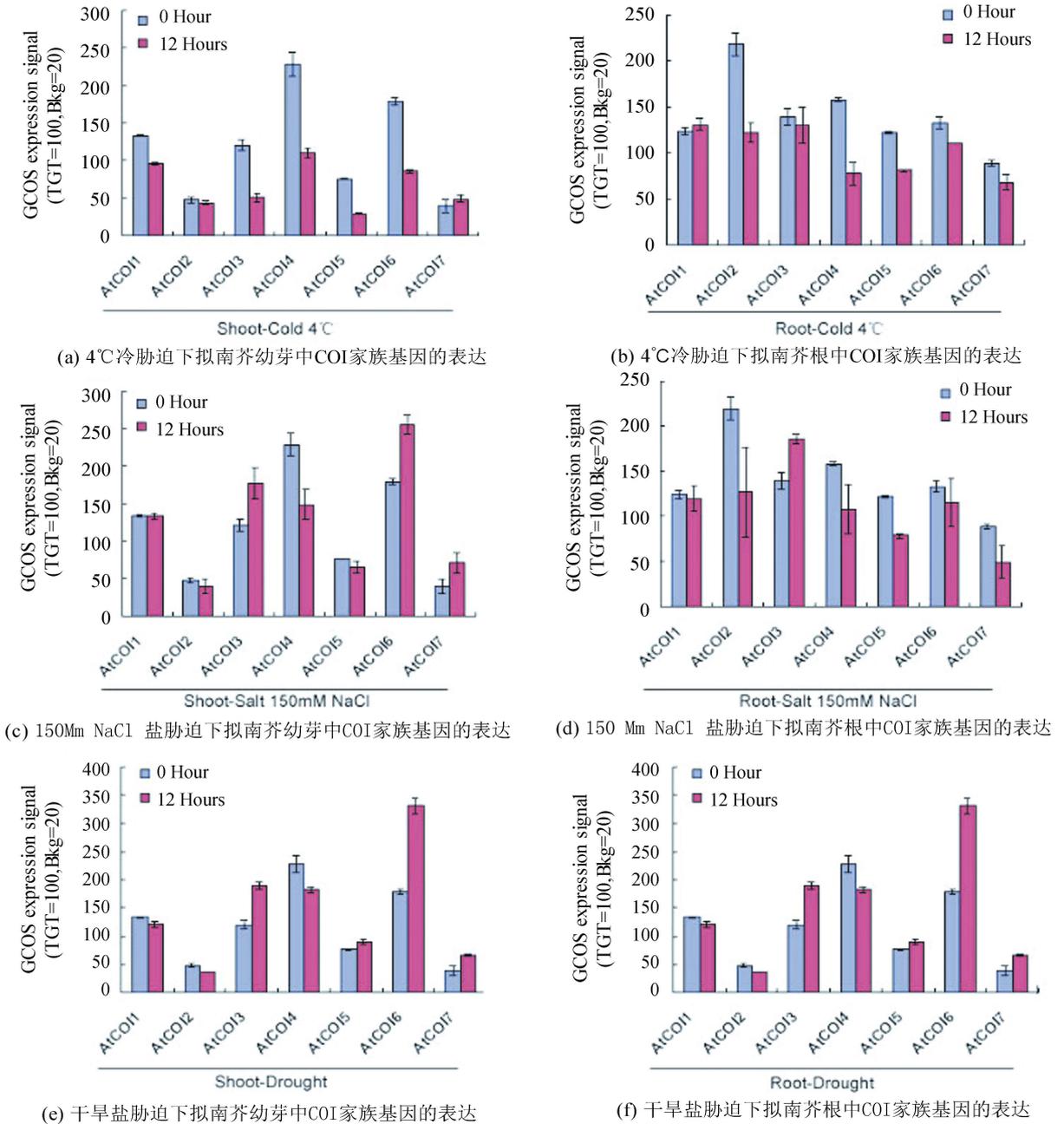


图5 拟南芥 COI 家族基因在不同胁迫下的表达

Fig. 5 The expression profiles of COI family genes among different stress in *Arabidopsis*

与拟南芥相比,水稻的9个 *OsCOI*s 在所选的7个不同组织器官中均有不同程度的表达(见图6)。其中 *OsCOI2* 在水稻叶、花以及种子的表达量显著高于其他8个 *OsCOI*s,相反, *OsCOI4* 和 *OsCOI6* 在所选的7个组织器官中表达量显著低于其他 *OsCOI*s 家族成员。应对冷胁迫、盐胁迫以及干旱胁迫,水稻的7个 *OsCOI*s 发生了不同的响应。其中,三种胁迫下 *OsCOI2* 在水稻根和幼芽中的表达量出现明显的上调,而 *OsCOI4* 和 *OsCOI6* 表达量仍然没有明显的响

应(见图7)。

以上结果表明,COIs 基因家族成员参与植物生长发育的多个时期,且在不同组织器官以及在不同的胁迫应答反应中发挥不同的作用。COI 基因家族在拟南芥和水稻中表达出现了显著差异分化,有可能导致家族成员出现功能差异,从而增加了 COI 基因家族功能多样性和丰富度,但 COI 家族基因的表达也不是完全独立的,而是存在一定的规律,这说明他们之间的功能也存在一定的协作和相互作用。

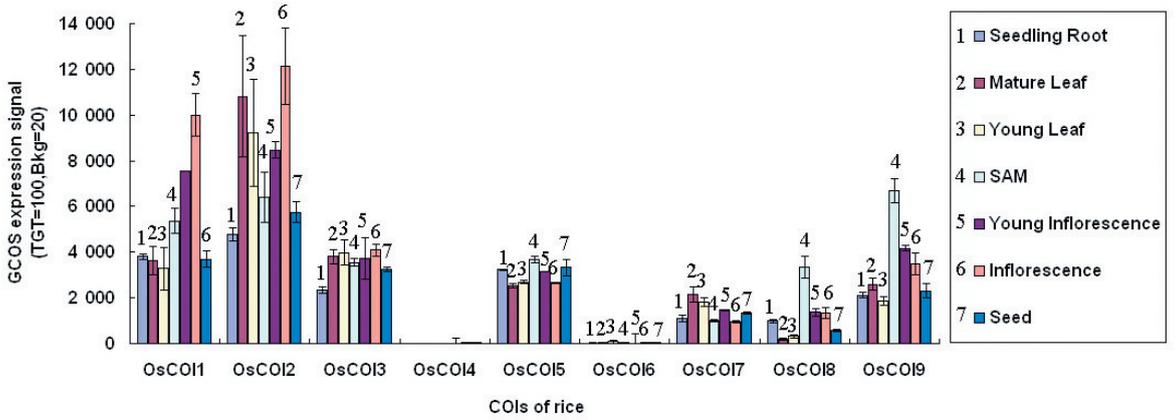
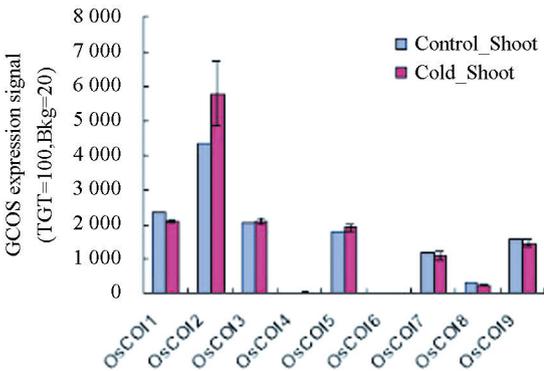


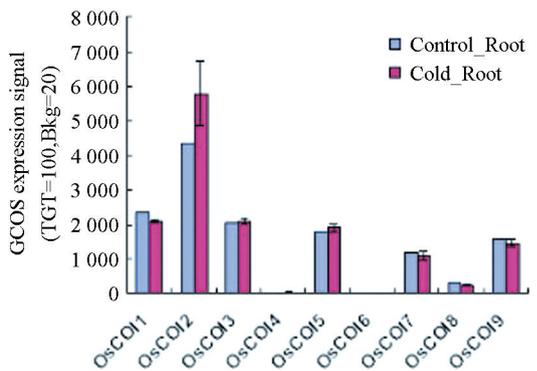
图 6 水稻 COI 家族基因在不同器官中的表达

Fig. 6 The expression profiles COI family genes among different organs in rice

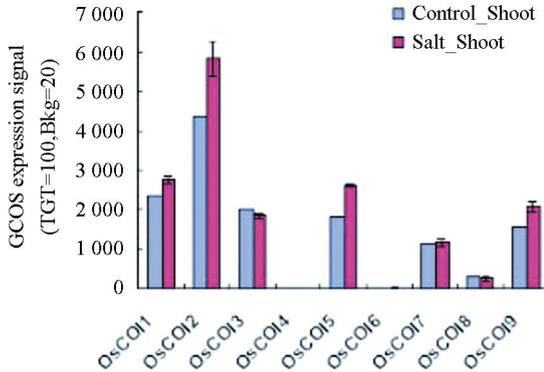
注:水稻不同器官包括根、叶(成熟叶、未成熟叶)、苗端分生组织、花和种子。



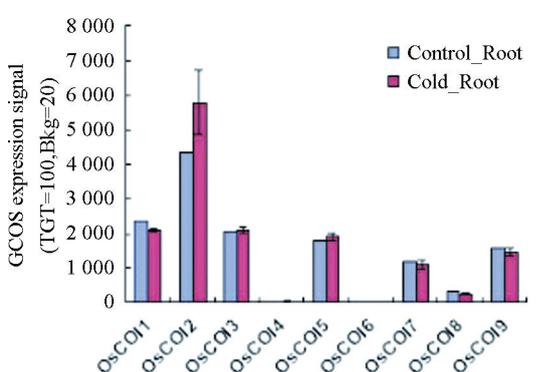
(a) 4°C 冷胁迫下拟南芥幼芽中COI家族基因的表达



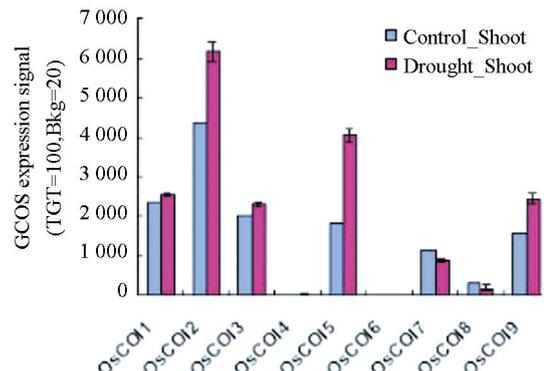
(b) 4°C 冷胁迫下拟南芥根中COI家族基因的表达



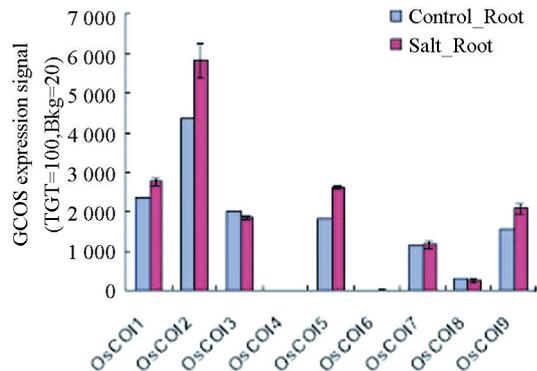
(c) 150 Mm NaCl 盐胁迫下拟南芥幼芽中COI家族基因的表达



(d) 150 Mm NaCl 盐胁迫下拟南芥根中COI家族基因的表达



(e) 干旱盐胁迫下拟南芥幼芽中COI家族基因的表达



(f) 干旱盐胁迫下拟南芥根中COI家族基因的表达

图 7 水稻 COI 家族基因在不同胁迫下的表达

Fig. 7 The expression profiles of COI family genes among different stress in rice

3 讨论及结论

通过 HMMsearch 和 BLAST 检索结果发现,在低等的藻类基因组中均未发现 COI 同源基因。然而,在所选的代表陆生植物中均发现了 COI 同源基因,且存在多个拷贝。已有研究表明,在低等水生藻类植物中有发现 F-box 家族成员,但是数量相对较少;而在陆生植物中发现大量的 F-box 家族成员,其中拟南芥和水稻中分别有 692 和 779 个^[23]。结构域分析发现,茉莉酸受体 COI1 含有 F-box-like,而 F-box-like (PF12937) 结构域即分化的 F-box (PF00646) 结构域。由此推测,F-box 基因家族在由水生到陆生植物的进化过程中发生大量基因扩增,同时,在陆生植物中形成了一类新的家族即 COI 基因家族。

在拟南芥中, *AtCOI1* 是茉莉酸的受体, *AtCOI3* (TIR1) 是生长素的受体^[24],两者在序列和结构上均有较高的同源性,然而,在功能上已出现了分化现象。此外,从拟南芥中鉴定的 *AtCOI*s 家族成员中,除 *AtCOI1* 外,其他 6 个家族成员 *AtCOI2* (AFB1)、*AtCOI3* (TIR1)、*AtCOI4* (AFB3)、*AtCOI5* (AFB2)、*AtCOI6* (AFB5) 和 *AtCOI7* (AFB4) 都是生长素信号的关键组分^[14]。值得一提的是,系统发育树提示,*AtCOI1* 和其他 6 个 *AtCOI*s 有明显的聚类分歧关系。具体表现为,Sub. III 亚家族中仅存在一个拟南芥基因即 (*AtCOI1*)。同时,SMART 结构域分析显示,该亚家族中 *COI*s 基因都没有典型的 F-box 和 LRR 结构域 (见图 2b)。但是利用 Pfam (<http://pfam.janelia.org/>) 对 *AtCOI1* 进行结构域分析显示,*AtCOI1* 含有 F-box-like 和 LRR_4 结构域,但是均为 insignificant 即不典型, E 值分别为 0.009 7 和 0.069。由此推测,植物 COI 家族基因的主要功能是参与植物激素的信号调控,而在进化的过程中发生了功能的分化现象,既有参与生长素信号的调控,也有参与茉莉酸信号的调控。

同源基因在不同的组织器官中表达,可为该家族基因的生理、生化、基因功能分化研究提供重要的信息。通过分析拟南芥和水稻 *COI*s 基因表达数据发现,*COI*s 基因在不同组织器官中都有表达,但在不同组织部位以及不同胁迫下的表达存在着差异。由此推测,植物 *COI*s 家族在由低等到高等植物的进化的过程中,为适应外界环境而分化出不同的家族成员,且不同家族成员之间存在明显的功能差异,进而增加了 COI 蛋白功能多样性和丰富度。

参考文献 (References)

[1] MOSBLECH A, THUROW C, GATZ C, et al. Jasmonic acid

perception by COI1 involves inositol polyphosphates in *Arabidopsis thaliana* [J]. *The Plant Journal*, 2011, 65 (6): 949-957.

[2] FONSECA S, CHICO J M, SOLANO R. The jasmonate pathway: the ligand, the receptor and the core signalling module [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2009, 12 (5): 539-547.

[3] CHINI A, BOTER M, SOLANO R. Plant oxylipins: COI1/JAZs/MYC2 as the core jasmonic acid-signalling module [J]. *The FEBS Journal*, 2009, 276 (17): 4682-4692.

[4] KATSIR L, SCHILMILLER A, STASWICH P E, et al. COI1 is a critical component of a receptor for jasmonate and the bacterial virulence factor coronatine [J]. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105 (19): 7100-7105.

[5] ADAMS E, TURNER J. Illuminating COI1: a component of the *Arabidopsis* jasmonate receptor complex also interacts with ethylene signaling [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2010, 5 (12): 1682-1684.

[6] XIE D X, FEYS B F, JAMES S, et al. COI1: an *Arabidopsis* gene required for jasmonate-regulated defense and fertility [J]. *Science*, 1998, 280 (5366): 1091-1094.

[7] SHEARD L B, TAN X, MAO H, et al. Jasmonate perception by inositol-phosphate-potentiated COI1-JAZ co-receptor [J]. *Nature*, 2010, 468 (7322): 400-405.

[8] WONG W C, YAP C K, EISENHABER B, et al. dissectHMMER: a HMMER-based score dissection framework that statistically evaluates fold-critical sequence segments for domain fold similarity [J]. *Biology Direct*, 2015 (10): 39. DOI: 10.1186/s13062-015-0068-3.

[9] 段龙飞, 慕小倩, 李文燕. 茉莉酸信号途径中转录抑制因子 JAZ 蛋白家族的分子进化分析 [J]. *植物学报*, 2013, 48 (6): 623-634.

DUAN Longfei, Mu Xiaoqian LI Wenyan. Molecular evolution of transcriptional repressor JAZ protein family in jasmonic acid signaling pathway [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2013, 48 (6): 623-624.

[10] LETUNIC I, COPLEY R R, SCHMIDT S, et al. SMART 4.0: towards genomic data integration [J]. *Nucleic Acids Research*, 2004, 32 (Database issue): D142-144.

[11] 段龙飞. 茉莉酸信号途径上关键基因家族 COI/JAZ/MYC 分子进化分析 [M]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.

DUAN Longfei. Molecular evolution analysis of the key gene families COI/JAZ/MYC in Jasmonic Acid Signaling Pathway [M]. Yangling: Northwest A&F University, 2013.

[12] LARKIN M A, BLACKSHIELDS G, BROWN N P, et al. Clustal W and Clustal X version 2.0 [J]. *Bioinformatics*, 2007, 23 (21): 2947-2948. DOI: 10.1093/bioinformatics/btm404.

[13] TALAVERA G, CASTRESANA J. Improvement of phyloge-

- nies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments [J]. *Systematic Biology*, 2007, 56 (4): 564 – 577. DOI: 10.1080/10635150701472164.
- [14] BASTER P, ROBERT S, KLEINE-VEHN J, et al. SCF (TIR1/AFB)-auxin signalling regulates PIN vacuolar trafficking and auxin fluxes during root gravitropism [J]. *The EMBO Journal*, 2013, 32(2): 260–274. DOI: 10.1038/emboj.2012.310.
- [15] LI Wenyan, WANG Xiang, LI Ri, et al. Genome-wide analysis of the NADK gene family in plants [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (6): e101051. DOI: 10.1371/Journal.pone.0101051.
- [16] LI W, LIU B, YU L, et al. Phylogenetic analysis, structural evolution and functional divergence of the 12-oxo-phytodienoate acid reductase gene family in plants [J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2009(9): 90. DOI: 10.1186/1471-2148-9-90.
- [17] GUINDON S, DELSUC F, DUFAYARD J F, et al. Estimating maximum likelihood phylogenies with PhyML [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2009 (537): 113 – 137. DOI: 10.1007/978-1-59745-251-9_6.
- [18] Guo A Y, Zhu Q H, Chen X, et al. GSDS: a gene structure display server [J]. *Hereditas*, 2007, 29(8): 1023–1026.
- [19] LEE T H, TANG H, WANG X, et al. PGDD: a database of gene and genome duplication in plants [J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41(Database issue): D1152–1158. DOI: 10.1093/nar/gks1104.
- [20] JAIN M, NIJHAWAN A, ARORA R, et al. F-box proteins in rice. Genome-wide analysis, classification, temporal and spatial gene expression during panicle and seed development, and regulation by light and abiotic stress [J]. *Plant Physiology*, 2007, 143(4): 1467–1483. DOI: 10.1104/pp.106.091900.
- [21] SCHMID M, DAVISON T S, HENZ S R, et al. A gene expression map of *Arabidopsis thaliana* development [J]. *Nature Genetics*, 2005, 37 (5): 501 – 506. DOI: 10.1038/ng1543.
- [22] 汤龙军, 朱璐, 王瑞丰, 等. 天冬氨酸蛋白酶在拟南芥和水稻中的分子进化、表达模式以及在花药发育中的功能分析 [J]. *植物生理学报*, 2015, 51 (3): 323 – 336. DOI: 10.13592/j.cnki.ppj.2014.0621.
- TANG Longjun, ZHU Lu, WANG Ruifeng, et al. Identification, evolutionary and expression profile analysis of the Aspartic Protease gene superfamily in *Arabidopsis thaliana* and rice [J]. *Plant Physiology Journal*, 2015, 51 (3): 323–336. DOI: 10.13592/j.cnki.ppj.2014.0621.
- [23] XU G, MA H, NEI M, et al., Evolution of F-box genes in plants: different modes of sequence divergence and their relationships with functional diversification [J]. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(3): 835–840.
- [24] QI J, LI J, HAN X, et al., Jasmonic acid carboxyl methyltransferase regulates development and herbivory-induced defense response in rice [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2015, 58(6): 564–76. DOI: 10.1111/jipb.12436.