

马铃薯光敏色素 *PHY* 基因的生物信息学及糖苷生物碱的 MALDI-MSI 分析

张小璐^{1,2}, 姜红^{1*}, 曾凡逵¹, 王雅², 刘刚¹, 刘琳¹

(1. 中国科学院兰州化学物理研究所环境材料与生态化学研究发展中心, 甘肃 兰州 730000;

2. 兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃 兰州 730050)

糖苷生物碱(Glycoalkaloids, GAs)是一种存在于茄科植物(马铃薯、番茄和茄子)中的有毒次级代谢物, 主要包括 α -卡茄碱和 α -茄碱, 这两种物质的相同之处是在结构上具有相似的糖苷单元, 不同之处是与其相连的糖基部分。虽然糖苷生物碱具有抵御细菌、真菌和昆虫等的功能, 但当其在块茎体内的积累量超过 20 mg/100 g 时, 就会引发人类的肠胃疾病, 甚至出现致命的危害。GAs 的积累主要由遗传因素决定, 但多种环境因素如光照、温度、贮藏期、损伤和干旱胁迫等也会造成 GAs 的大量积累。在众多影响因素中, 光照对 GAs 的影响最为严重。研究表明, 不同光质对马铃薯块茎中 GAs 积累的影响不同, 其中, 红光照射后, 块茎中 GAs 含量更高。然而, 关于红光促进 GAs 积累的机制还有待进一步揭示。

光敏色素(Phytochrome, PHY)是一类吸收红光与远红光的光受体蛋白, 广泛存在于各类植物以及植物的不同组织中。植物体受到光照射时, 首先会通过光受体感知光信号, 再通过信号转导, 进一步调节相关基因的表达, 调控植物体内的多个代谢过程。前期的转录组分析结果表明, 红光处理块茎后, 光合作用、叶绿素代谢、甾醇类生物合成、植物激素信号和 MAPK 信号转导途径发生了显著的变化。因此推测, 红光受体 PHY 能够通过调节相关代谢途径而调控块茎中 GAs 的积累。光敏色素在长期的进化过程中, 不同的物种中, 其种类存在差异。在拟南芥、茶树、谷子和木兰中分别鉴定出 5 个 *AtPHYs*, 6 个 *CsPHYs*, 4 个 *StPHYs* 和 5 个 *MsPHYs* 家族成员。然而, 鲜见有关于对马铃薯 *PHYs* 基因家族成员及其功能的研究报道。

研究通过生物信息学方法鉴定并分析了马铃薯中 *PHY* 基因家族成员的分类及表达模式, 这将为揭示红光诱导马铃薯块茎 GAs 生物合成的具体机制提供一定的科学依据。利用 TBtools 筛选得到 5 个 *PHYs* 基因, 分别属于 *PHYA*、*PHYB*、*PHYC* 和 *PHYE* 四个亚族。通过构建系统发育进化树, 发现马铃薯 *StPHYs* 与番茄的进化关系最为接近, 其中, *StPHYB* 与番茄 *SIPHYB1* 和烟草 *NiPHYB* 亲缘关系较近, *StPHYB2* 与番茄 *SIPHYB2* 亲缘关系较近。

作者简介: 张小璐(1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为马铃薯品质与分子机制研究。

基金项目: 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系(CARS-09); 吉林省与中国科学院科技合作高技术产业化专项(2021SY-HZ0005)。

*通信作者: 姜红, 博士, 特聘助理研究员, 研究方向为马铃薯品质与分子机制研究

StPHY 蛋白的氨基酸数量为 704~1 125 个, 分子量为 77 442.38~125 782.06 u, 等电点的范围为 5.75~5.89, 属于酸性蛋白。基因结构域和 Motif 分析结果表明, StPHY 蛋白编码基因中共存在 5 种结构域, 分别为 PAS_2 (PF08446)、GAF、PHY (PF00360)、PAS、HisKA 和 HATPase_c 结构域, 所有成员的 N 端为光敏色素典型结构域 PAS_2、GAF 和 PHY, 而 C 端为 PAS、HisKA 和 HATPase_c 结构域。序列分析发现 Motif 9 为 PAS_2 结构域, Motif 2、Motif 6、Motif 7 为 PHY 结构域, Motif 1、Motif 3、Motif 5 为 GAF 结构域, 表明 StPHYs 蛋白具备该家族蛋白的典型特征。所有的 *StPHYs* 成员具有长度不等的非编码区和 CDS 区, 并且含有相同数量的外显子。*StPHYs* 基因被定位在 5 条染色体上, 其中 *StPHYB* 和 *StPHYB2* 被定位到不同的染色体上。*StPHY* 基因启动子序列中的顺式元件可分为植物激素响应元件、环境胁迫响应元件和转录因子结合位点。其中的脱落酸响应元件在激素响应元件中占比最多, 光响应元件在环境胁迫响应元件中数量最多, 这表明马铃薯 *StPHYs* 基因主要受光信号的调节, 在光形态建成中具有重要作用。进一步了解 StPHYs 蛋白的空间结构特性发现, 5 个 StPHYs 蛋白的三级结构较为一致, 均以 α -螺旋和无规则卷曲为主。此外, 表达模式分析结果表明, 不同家族成员在马铃薯相同组织器官中的表达水平存在差异, 且同一家族成员在不同的组织器官中的表达也具有差异性, 而不同的胁迫处理、激素处理和诱抗处理下的表达水平模式与其类似, 这表明 *StPHYs* 基因不但能够参与马铃薯的生长发育过程, 而且可以响应多种环境胁迫。

研究还利用基质辅助激光解吸电离质谱成像 (Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging, MALDI-MSI) 技术检测了红光处理下 GAs 在马铃薯块茎中的分布和变化, 结果表明, 随着时间的延长, α -卡茄碱和 α -茄碱均能够在块茎表皮部位检测到, 且红光处理下 GAs 的分布更为明显。因此, 结合质谱成像和生信分析的结果, 将进一步通过转基因技术和转录调控手段验证红光受体 *StPHYs* 基因在 GAs 生物合成过程中的功能及其调控机制。

关键词: 马铃薯; 红光处理; *StPHYs*; 生信分析; MALDI-MSI 检测