



## 茶树 *GELP* 基因家族的鉴定与表达分析

张在宝, 王雪珂, 王朔, 孙萌柯, 陈佳慧, 王思雨

### 引用本文:

张在宝, 王雪珂, 王朔, 孙萌柯, 陈佳慧, 王思雨. 茶树 *GELP* 基因家族的鉴定与表达分析[J]. 信阳师范学院学报自然科学版, 2022, 35(1): 36–44. doi: 10.3969/j.issn.1003–0972.2022.01.008

ZHANG Zaibao, WANG Xueke, WANG Shuo, SUN Mengke, CHEN Jiahui, WANG Siyu. Identification and Expression Analysis of *GELP* Gene Family in *Camellia Sinensis*[J]. *Journal of Xinyang Normal University (Natural Science Edition)*, 2022, 35(1): 36–44. doi: 10.3969/j.issn.1003–0972.2022.01.008

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3969/j.issn.1003–0972.2022.01.008>

## 您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

### 茶树异胡豆苷合成酶基因的全基因组鉴定和表达分析

Genome-wide Identification and Expression Analysis of Strictosidine Synthase Gene in Tea Plant

信阳师范学院学报自然科学版, 2021, 34(4): 596–605. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1003–0972.2021.04.015>

### 茶树 *NAC* 基因的鉴定及其在逆境反应中的表达调控分析

Genome-wide Identification of *NAC* Genes in Tea Plant and Its Expression Regulation in Stress Response

信阳师范学院学报自然科学版, 2020, 33(4): 567–578. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1003–0972.2020.04.010>

### 圈并图 $F(m,n)$ 的边-平衡指数集

On Edge-Balanced Index Sets of Circle Union Graphs  $F(m,n)$

信阳师范学院学报自然科学版, 2020, 33(4): 527–532. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1003–0972.2020.04.003>

### 茉莉酸对水稻根系生长素合成及运输的调控

Research of Jasmonic acid Modulated Auxin Biosynthesis and Transport in Rice Root

信阳师范学院学报自然科学版, 2021, 34(3): 448–451. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1003–0972.2021.03.017>

### 茶树炭疽病拮抗内生细菌贝莱斯芽胞杆菌的筛选与鉴定

Screening and Identification of the Endophytic Bacteria *Bacillus velezensis* Against Tea Anthracnose

信阳师范学院学报自然科学版, 2021, 34(2): 201–207. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1003–0972.2021.02.006>

# 茶树 *GELP* 基因家族的鉴定与表达分析

张在宝\*,王雪珂,王 朔,孙萌柯,陈佳慧,王思雨

(信阳师范学院 生命科学学院/河南省茶树生物学重点实验室,河南 信阳 464000)

**摘要:**从拟南芥数据库中获得 *GELP* 基因家族注册号,运用生物信息学分析的方法,在茶树数据库中得到了 *GELP* 基因家族成员 86 个,这些基因可分为 9 个亚族,其编码蛋白的氨基酸数为 171~753,理论等电点为 4.35~9.48,蛋白质分子量为 18.594 19~84.550 54 kDa。基因结构分析表明,有 3 条基因只有 2 个外显子,其余基因外显子数 3~13。对上游 2 kb 区域启动子顺式作用元件分析表明,该基因家族成员对逆境胁迫应答 MYB 响应明显,除 *CsGELP16*、*CsGELP24*、*CsGELP56*、*CsGELP61*、*CsGELP77*、*CsGELP80* 外,其他基因均对抗寒元件识别位点 MYC 响应明显。转录组数据分析表明,*CsGELP79*、*CsGELP64*、*CsGELP86*、*CsGELP4* 分别在 Cold、PEG、NaCl、MeJA 等处理下上调显著,表明基因 *CsGELP79* 响应寒冷胁迫,*CsGELP64* 响应干旱胁迫,*CsGELP86* 响应高盐胁迫,*CsGELP4* 响应抵抗病虫害。此外,*CsGELP1*、*CsGELP12*、*CsGELP14*、*CsGELP15*、*CsGELP18*、*CsGELP32*、*CsGELP55* 在各种处理下均表现为下调,说明这些基因在抗逆胁迫中起负调节作用。

**关键词:**茶树;*GELP* 基因家族;转录组分析;生物信息学分析

中图分类号:Q941.2 文献标识码:A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Identification and Expression Analysis of *GELP* Gene Family in *Camellia Sinensis*

ZHANG Zaibao\*, WANG Xueke, WANG Shuo, SUN Mengke, CHEN Jiahui, WANG Siyu

(College of Life Sciences/Tea Plant Biology Key Laboratory of Henan Province,  
Xinyang Normal University, Xinyang 464000, China)

**Abstract:** The Arabidopsis *GELP* genes were used as queries and 86 *GELP* gene members, which can be divided into 8 subgroups, were obtained from the tea plant. The amino acids of the encoding proteins were 171~753, the theoretical isoelectric points were 4.35~9.48, and the molecular weights were 18.594 19~84.550 54 kDa. Gene structure analysis showed that most members have 3~13 exons. Several cis-elements were identified in the promoter regions of the *CsGELP* genes that are important in regulating growth, development, light responses and the response to several stresses. Most members contain the MYB and MYC elements, which are involved in responses to salt and cold-stresses. Transcriptome analysis showed that the expressions of *CsGELP79*, *CsGELP64*, *CsGELP86*, and *CsGELP4* were enhanced in cold, PEG, NaCl, and MeJA treatments, respectively, indicating that *CsGELP79* strongly responded to Cold stress, *CsGELP64* strongly responded to drought stress, *CsGELP86* strongly responded to high salt stress, and *CsGELP4* strongly responded to disease and insect resistance. In addition, *CsGELP1*, *CsGELP12*, *CsGELP14*, *CsGELP15*, *CsGELP18*, *CsGELP32*, *CsGELP55* were all down-regulated under various treatments, suggesting that these genes play a negative regulatory role in stress responses.

**Key words:** tea tree; *GELP* gene family; stress; bioinformatics analysis

## 0 引言

基因不是唯一的,而是属于多基因家族<sup>[1-2]</sup>。

这些家族产生于基因、染色体片段和全基因组水平的重复<sup>[3]</sup>。植物基因家族的研究对于开发研究基因组进化的工具和阐明基因功能具有重要意义。

收稿日期:2021-06-14;修订日期:2021-10-08; \*通信联系人, E-mail: zaibaozhang79@163.com

基金项目:国家自然科学基金项目(32170351)

作者简介:张在宝(1979—),男,山东潍坊人,副教授,博士,主要从事植物生殖发育研究与功能进化研究。

植物在受到干旱、寒冷、高盐、高温和氧化胁迫等外界各种非生物逆境胁迫时,会进化出一套应对逆境的保护机制以确保植物正常生长发育。在不利的环境下,植物可以通过启动相关基因表达以及改变某些蛋白结构等来保护体内正常的新陈代谢反应,从而维持植物体结构与功能的完整性<sup>[4-5]</sup>。在植物逆境信号转导过程中,  $\text{Ca}^{2+}$  作为第二信使起着至关重要的作用<sup>[6]</sup>。脂肪酶是一种水解酶,能催化甘油三酸酯、甘油二酸酯的裂解,释放出脂肪酸和醇类<sup>[7]</sup>。GELP 酯酶/脂肪酶蛋白是脂质酶的一个非常大的亚科,已在微生物和许多植物中被发现,但只有少数被鉴定为在生长、发育和应激反应中发挥作用。GELP 脂肪酶-SGNH 水解酶以 Ser-Gly-Asn-His 为 4 个保守残基 I、II、III 和 V,分别有一个灵活的活性部位<sup>[8]</sup>。因此,GELP 酯酶和脂酶具有广泛的底物特异性,区域特异性和选择性等多功能特性。

基于水杨酸和病原菌对 GELP-脂肪酶基因的诱导,提出了 GELP-脂肪酶基因参与植物防御的观点<sup>[9-11]</sup>,并证明它们的活性可调节疾病易感性。同样,GELP-脂肪酶被证明是由各种非生物激发因子诱导的<sup>[12-13]</sup>,它们能够提高植物对盐和其他环境胁迫的耐受性。此外,GELP-脂肪酶被认为参与了与生长过程相关的激素途径。也有证据表明 GELP-脂肪酶的表达与其他发育过程相关<sup>[14]</sup>。最后,GELP-脂肪酶参与角质层和蜡的代谢也越来越明显,这些物质形成了植物地上部分表皮分泌的角质层<sup>[15]</sup>。

花粉壁保护花粉粒,并在介导花粉粒与柱头的早期接触,从而促进花粉黏附柱头,促进水合中起关键作用。花粉壁由绒毡层细胞合成的富含脂质的化合物组成。GRP17 是分离到的第一个花粉壁蛋白,它是花粉落在柱头后快速水合所必需的蛋白。除了含 oleosin 结构域的蛋白外,花粉壁蛋白主要由 GELP 脂肪酶/细胞外脂肪酶(EXLs)组成。拟南芥有 6 个 EXL 蛋白(EXL 1~6),它们在基因组中聚集在一起,都属于 GELPs 亚家族。其中 EXL4 和 EXL6 富集于花粉壁中。EXL4 是拟南芥花粉有效水合的必需基因,该基因功能缺失突变导致花粉水合延迟。EXL6 的功能和作用尚不清楚,尽管已知该基因是参与拟南芥花粉发育的关键 AMS 的靶基因<sup>[16]</sup>。

许多 GELP 脂肪酶成员在植物中具有重要的功能<sup>[17]</sup>。从水稻、拟南芥和玉米等植物中分离,测

序和鉴定了几种 GELP 酯酶/脂肪酶。Enod8 是在苜蓿和模型豆科植物中发现的 GELP 型酯酶/脂肪酶基因,具有乙酰和丁基酯酶活性,但不具有脂肪族酯酶活性<sup>[18]</sup>。在油菜中,发现一种芥子碱酯酶具有长链脂肪族酯类的芥子碱酯酶活性<sup>[19]</sup>。从向日葵发芽后种子中分离纯化了具有脂肪乙酰化酶活性的 GELP 酶,从大豆叶片、马铃薯中分离纯化了几种具有非特异性乙酰化酶活性的 GELP 酶<sup>[20]</sup>。

本实验运用生物信息学分析的方法,在茶树数据库中进行了 GELP 基因家族检索,对所得到的茶树 GELP 基因家族进行分析,初步探索该基因在茶树逆境胁迫中的表达特点和响应机制,为其功能验证和育种工作提供参考。

## 1 方法

### 1.1 茶树 GELP 基因家族成员鉴定

对拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 数据库 (<http://www.arabidopsis.org/>) 中的 105 个 GELP 基因保守序列蛋白,在茶树 (*Camellia sinensis*) 数据 (<http://tpia.teaplant.org/index.html>) 中经同源基因比对获得茶树 GELP 基因组成员信息,为避免重复对获得的所有序列进行 DNAMAN 比对筛选。对在茶树基因库获取已知序列的基因号、氨基酸数、等电点、分子量大小等理化性质数据进行分析 (<https://web.expasy.org/protparam/>)。

### 1.2 茶树 GELP 基因家族进化关系

利用 MEGA7 和 Clustalx.exe 分析蛋白系统进化关系。

### 1.3 茶树 GELP 基因家族基因结构系列分析

利用 GSDS (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>) 进行基因结构分析。

### 1.4 茶树 GELP 基因家族 motif 分析

利用 MEME (<http://meme-suite.org/tools/meme>) 进行 motif 分析。

### 1.5 茶树 GELP 家族启动子顺式作用元件分析

利用 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 进行启动子顺式作用元件分析。

### 1.6 茶树 GELP 家族不同处理下的基因表达热图分析

在茶树网站 (<http://tpia.teaplant.org/index.html>) 下载 4 种处理下的基因表达数据,然后通过 RStudio 软件对数据进行处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 茶树 GELP 家族蛋白氨基酸理化性质分析

经茶树数据库同源比对得到了 86 条茶树 GELP 家族基因,命名为 CsGELP1~CsGELP86 (表 1)。这些基因的片段大小各不相同,编码的氨基酸在 171~753 之间,其中 CsGELP69 编码氨基酸最小,CsGELP1 编码氨基酸最大。同一亚族不同基因编码氨基酸数差异不大,如 CsGELP7、CsGELP8 均属于家族中的 I~d 亚族。推测的分子量都为 41.977 21 kDa。理论等电点(pI)为 5.66。

表 1 茶树 GELP 理化性质

Tab. 1 Physicochemical properties of *Camellia sinensis* GELP genes

蛋白 Protein	基因号	氨基酸数	分子量/kDa	pI
CsGELP1	TEA019805	753	84.550 54	6.29
CsGELP2	TEA009538	350	39.265 87	5.09
CsGELP3	TEA033403	477	52.341 71	6.23
CsGELP4	TEA014944	420	46.30 189	5.29
CsGELP5	TEA021609	318	34.790 15	4.86
CsGELP6	TEA017693	391	43.250 46	6.20
CsGELP7	TEA011925	381	41.977 21	5.66
CsGELP8	TEA011949	381	41.977 21	5.66
CsGELP9	TEA002483	364	39.558 08	5.76
CsGELP10	TEA022242	427	47.441 76	9.48
CsGELP11	TEA017290	173	19.332 21	8.93
CsGELP12	TEA025026	381	42.698 57	5.26
CsGELP13	TEA013181	395	44.026 56	9.09
CsGELP14	TEA031906	529	58.184 99	9.01
CsGELP15	TEA023119	441	49.433 46	9.31
CsGELP16	TEA014945	372	41.589 73	6.88
CsGELP17	TEA006158	372	41.589 73	6.88
CsGELP18	TEA021927	333	36.478 87	6.04
CsGELP19	TEA016526	432	47.343 71	8.79
CsGELP20	TEA030441	418	46.202 31	9.45
CsGELP21	TEA023896	408	44.639 03	5.90
CsGELP22	TEA031642	398	43.752 82	9.29
CsGELP23	TEA005684	404	45.138 37	4.89
CsGELP24	TEA016768	396	44.494 28	8.28
CsGELP25	TEA018131	251	27.175 57	4.51
CsGELP26	TEA027607	356	38.907 49	6.11
CsGELP27	TEA024184	398	43.672 19	7.59
CsGELP28	TEA021925	319	35.160 26	6.43
CsGELP29	TEA017694	380	41.455 36	6.09
CsGELP30	TEA000758	280	31.548 88	9.06
CsGELP31	TEA024268	388	42.807 42	8.63
CsGELP32	TEA009539	350	39.438 27	5.12
CsGELP33	TEA002692	422	46.571 56	8.76
CsGELP34	TEA029699	406	43.648 41	8.83
CsGELP35	TEA000201	374	40.922 70	7.48

续表 1

蛋白 Protein	基因号	氨基酸数	分子量/kDa	pI
CsGELP36	TEA018109	400	44.067 01	5.51
CsGELP37	TEA016109	375	41.164 32	8.64
CsGELP38	TEA032710	375	41.164 32	8.64
CsGELP39	TEA006290	415	45.491 42	6.59
CsGELP40	TEA020196	317	35.878 80	6.17
CsGELP41	TEA029024	493	52.784 76	5.06
CsGELP42	TEA013198	382	42.049 75	6.75
CsGELP43	TEA001204	368	40.960 28	8.60
CsGELP44	TEA032953	361	40.002 96	9.08
CsGELP45	TEA025484	383	42.788 46	6.30
CsGELP46	TEA022245	349	38.898 35	9.13
CsGELP47	TEA017585	411	44.914 52	6.31
CsGELP48	TEA021906	229	24.860 82	8.77
CsGELP49	TEA002792	230	25.338 02	8.59
CsGELP50	TEA030431	371	41.044 06	7.56
CsGELP51	TEA002891	380	41.085 17	8.96
CsGELP52	TEA006214	304	34.744 12	9.35
CsGELP53	TEA018148	485	53.427 83	7.87
CsGELP54	TEA030414	421	46.404 34	6.35
CsGELP55	TEA010883	541	59.702 32	7.90
CsGELP56	TEA017473	231	25.166 73	4.73
CsGELP57	TEA029864	412	46.042 12	8.85
CsGELP58	TEA028349	364	39.578 11	5.97
CsGELP59	TEA005525	354	38.458 97	8.78
CsGELP60	TEA019108	419	46.575 55	8.68
CsGELP61	TEA032960	361	39.880 59	8.36
CsGELP62	TEA028095	273	30.415 54	5.09
CsGELP63	TEA028133	269	30.456 40	9.00
CsGELP64	TEA030418	377	41.46055	6.81
CsGELP65	TEA009224	388	42.352 96	6.07
CsGELP66	TEA033119	256	28.817 88	5.60
CsGELP67	TEA011930	439	48.863 80	7.19
CsGELP68	TEA008203	363	39.383 01	8.04
CsGELP69	TEA031415	171	18.594 19	7.57
CsGELP70	TEA008402	371	40.331 68	5.06
CsGELP71	TEA024266	291	31.690 18	5.05
CsGELP72	TEA003785	416	45.376 88	4.35
CsGELP73	TEA002158	368	40.417 21	6.59
CsGELP74	TEA009528	394	43.571 92	8.28
CsGELP75	TEA000508	273	30.638 68	5.15
CsGELP76	TEA019124	480	52.363 49	5.51
CsGELP77	TEA018069	366	39.962 52	8.06
CsGELP78	TEA002455	369	40.859 99	6.40
CsGELP79	TEA016514	291	31.705 34	4.89
CsGELP80	TEA006722	225	24.921 19	5.75
CsGELP81	TEA011570	368	40.168 15	6.00
CsGELP82	TEA021936	392	43.187 14	8.00
CsGELP83	TEA021558	315	34.244 31	6.64
CsGELP84	TEA007149	328	36.048 23	8.06
CsGELP85	TEA019807	405	45.364 70	9.47
CsGELP86	TEA024286	302	33.154 58	5.55

## 2.2 茶树与拟南芥 *GELP* 家族多序列比对进化分析

在茶树系统进化树构建中,茶树 *CsGELP* 基

因家族被划分为 4 个亚支(图 1),第 I 和第 II 可进一步细分为 6 个亚支(I 中 3 个,II 中 3 个)。

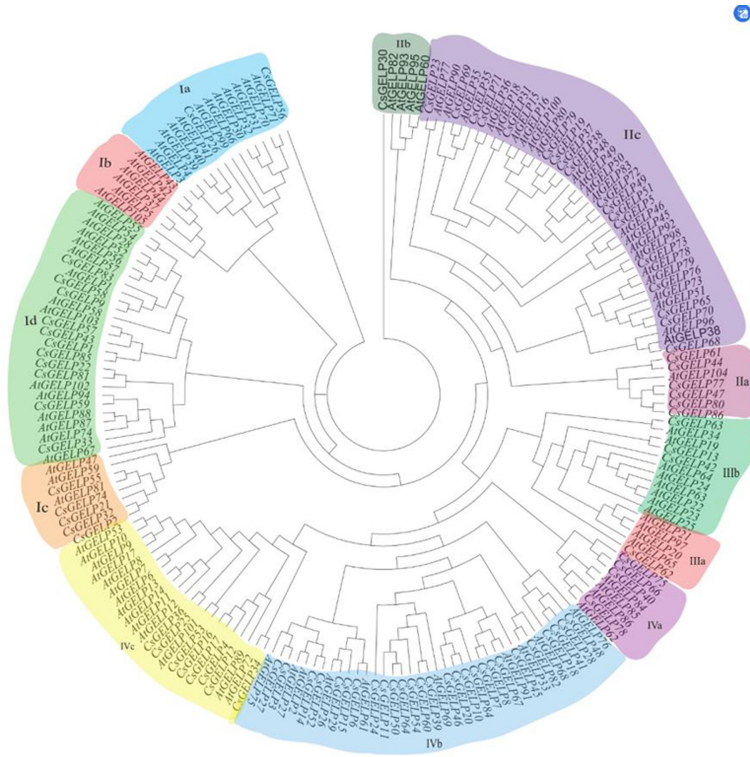


图 1 茶树(*Cs*),拟南芥(*At*)*GELP* 基因进化树

Fig. 1 *Camellia sinensis* (*Cs*), *Arabidopsis thaliana* (*At*) *GELP* genes evolutionary tree

考虑到同源基因通常具有相同的功能,为了进一步了解茶树家族谱系及功能特点,对拟南芥和茶树 *GELP* 家族基因 (*AtGELP*, *CsGELP*) 使用 MEGA7 软件,ClustalW 比对和 Neighbor-joining 的方法构建系统发育树。共有 191 个基因,其中 *CsGELP* 基因有 86 个、*AtGELP* 基因 105 个,利用 MEGA7 中的 NJ 方法构建了系统发育树,由图可知茶树和拟南芥的 *GELP* 基因可分为四个分支 (I~IV)(图 1),第 I、第 II 和第 IV 分支分别由 4 个、3 个和 3 个分支组成,第 III 分支由 2 个分支组成。之前对陆生植物 *GELP* 基因的分析显示有三个主要分支和一个次要分支,这与我们的结果一致。I a 亚族中包含 12 个拟南芥、2 个茶树基因; I b 里只包含 6 个拟南芥基因; I c 中包含 3 个拟南芥基因和 5 个茶树基因; I d 中有 15 个拟南芥基因、11 个茶树基因; II a 中有 2 个拟南芥基因、6 个茶树基因; II b 中有 4 个拟南芥基因、1 个茶树基因; II c 中有 24 个拟南芥基因、18 个茶树基因; III a 有 4 个拟南芥基因、1 个茶树基因; III b 中 8 个拟南芥基因、3 个茶树基因; IV a 有 4 个拟南芥基因、4

个茶树基因; IV b 有 10 个拟南芥基因、27 个茶树基因; IV c 有 14 个拟南芥基因、8 个茶树基因。茶树与拟南芥的 *GELP* 基因有较高的同源性,推测直系同源基因之间具有相同的功能。拟南芥的 *AtGELP*39~44 属于 I a 和 I b 亚族,可能参与授粉与受精,因此推测这两个亚族中的 *CsGELP*56 和 *CsGELP*26 也有此功能。

### 2.3 茶树 *GELP* 家族基因结构分析

从图 2 可以看出,*CsGELP*52 整条基因均为外显子,且 *CsGELP*52 在 IV b 亚族,IV b 亚族内 *CsGELP*52 不含有内含子,而且这些亚族基因中只有 *CsGELP*52 存在内含子缺失现象。该基因家族的外显子数目都分布在 1~13 之间。

### 2.4 茶树 *GELP* 家族 motif 序列分析

在茶树 *GELP* 家族中共找到了 10 个 motif (图 3)。除 *CsGELP*75、*CsGELP*40 和 *CsGELP*30 外,其他亚族内 motif 分布的相对比较均匀,尤其在 IV c 亚族中 *CsGELP*16 和 *CsGELP*17; IV b 亚族组中 *CsGELP*7 和 *CsGELP*8 分布的数量和位置都基本相同,具有高度的保守性,推测在同一亚族

内其结构域和功能单位均相似。motif1 在所有成员上分布的数量最多,且不同基因的分布情况与其

他成员相比差异明显。

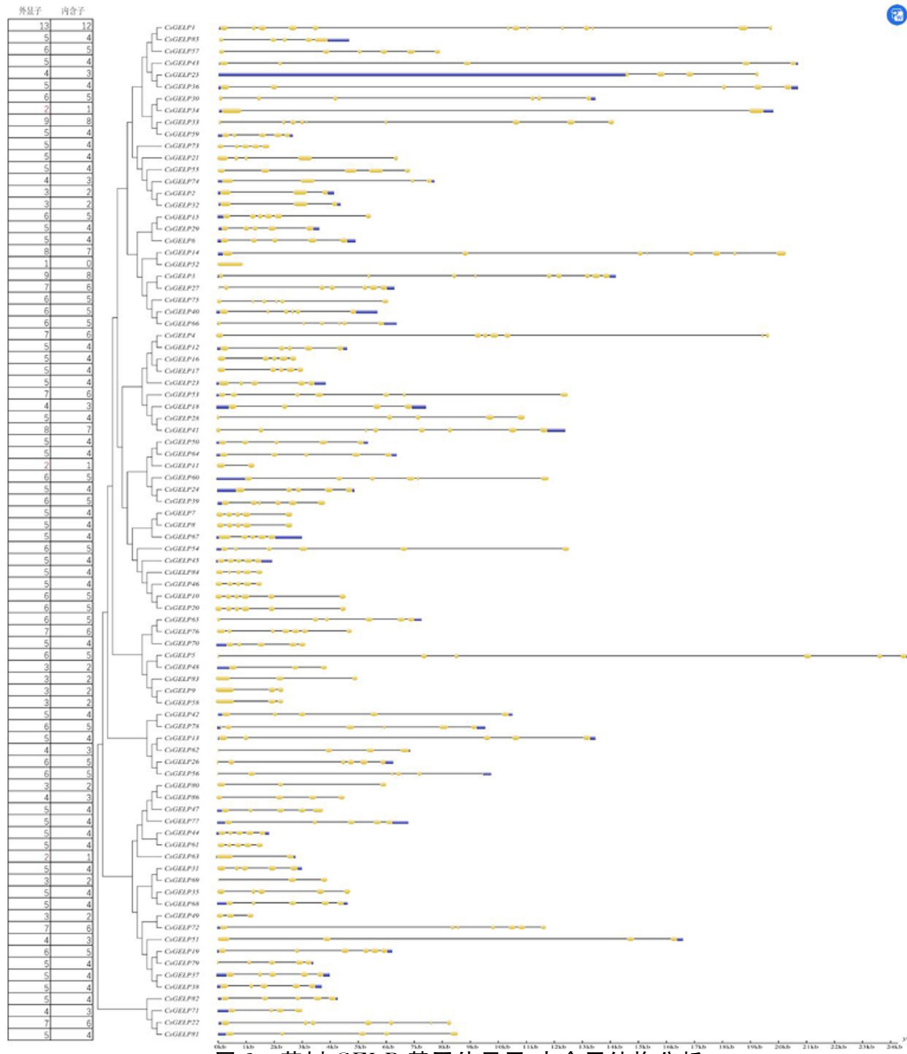


图 2 茶树 GELP 基因外显子-内含子结构分析

Fig. 2 Exon intron structure analysis of *Camellia sinensis* GELP genes

## 2.5 茶树 GELP 家族基因上游 2 kb 顺式作用元件分析

为了确定茶树 GELP 基因家族启动子上游 2 kb 的顺式作用区域,在该基因的起始密码子上游搜索 2 kb 碱基序列进行分析(表 2),86 条茶树 GELP 基因中大部分基因均含有逆境胁迫应答元件 MYB 和抗寒元件识别位点 MYC(图 4);除 CsGELP5、CsGELP7、CsGELP11、CsGELP15、CsGELP16、CsGELP17、CsGELP22、CsGELP24、CsGELP28、CsGELP31、CsGELP33、CsGELP49、CsGELP50、CsGELP52、CsGELP65、CsGELP66、CsGELP73、CsGELP86 外,其他基因均含有乙烯应答元件 ERE;CsGELP58 含有脱落酸元件 ABRE 最多,推测该基因在 ABA 胁迫应答机制中起关键作用;CsGELP4、CsGELP7、CsGELP9、

CsGELP15、CsGELP16、CsGELP17、CsGELP18、CsGELP20、CsGELP21、CsGELP23、CsGELP25、CsGELP27、CsGELP28、CsGELP29、CsGELP31、CsGELP33、CsGELP37、CsGELP38、CsGELP40、CsGELP42、CsGELP44、CsGELP45、CsGELP47、CsGELP48、CsGELP50、CsGELP52、CsGELP53、CsGELP54、CsGELP58、CsGELP59、CsGELP62、CsGELP63、CsGELP66、CsGELP70、CsGELP72、CsGELP75、CsGELP76、CsGELP77、CsGELP80、CsGELP84、CsGELP85 这 41 个基因均含有响应 MYB 结合位点诱导干旱的作用元件 MBS;CsGELP1、CsGELP24、CsGELP52、CsGELP63、CsGELP72、CsGELP79、CsGELP84 这 7 条基因均含有 DRE 元件,启动子作用元件决定了该基因对逆境信号的胁迫机制。

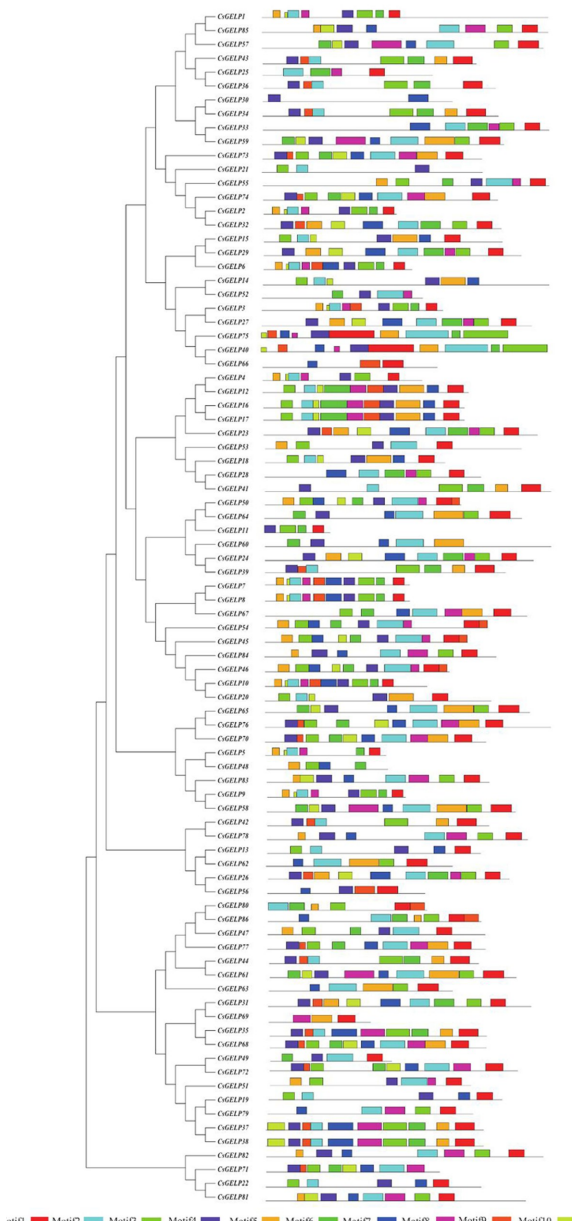


图3 茶树 *GELP* 家族 motif1~motif10 分析

Fig. 3 *Camellia sinensis* *GELP* family motif1 ~ motif10 analysis

续表 2

基因	乙烯应 答元件 ERE	脱水应 答元件 DRE	脱落酸 应答元 件 ABRE	逆境胁 迫应答 元件 MYB	抗寒元 件识别 位点 MYC	MYB 结 合位点 诱导干 旱 MBS
<i>CsGELP8</i>	2	0	4	4	2	0
<i>CsGELP9</i>	5	0	2	3	3	2
<i>CsGELP10</i>	1	0	0	5	5	0
<i>CsGELP11</i>	0	0	4	3	3	0
<i>CsGELP12</i>	2	0	0	6	2	0
<i>CsGELP13</i>	1	0	0	2	5	0
<i>CsGELP14</i>	3	0	2	2	2	0
<i>CsGELP15</i>	0	0	1	6	3	2
<i>CsGELP16</i>	0	0	6	0	0	2
<i>CsGELP17</i>	0	0	0	0	1	1
<i>CsGELP18</i>	4	0	2	2	6	1
<i>CsGELP19</i>	5	0	0	0	1	0
<i>CsGELP20</i>	1	0	0	5	4	1
<i>CsGELP21</i>	2	0	0	4	9	1
<i>CsGELP22</i>	0	0	1	3	9	0
<i>CsGELP23</i>	2	0	0	4	2	2
<i>CsGELP24</i>	0	1	0	1	0	0
<i>CsGELP25</i>	2	0	0	2	3	2
<i>CsGELP26</i>	2	0	0	4	5	0
<i>CsGELP27</i>	1	0	2	2	4	1
<i>CsGELP28</i>	0	0	3	6	8	1
<i>CsGELP29</i>	2	0	0	4	5	1
<i>CsGELP30</i>	3	0	0	1	4	0
<i>CsGELP31</i>	0	0	4	3	2	2
<i>CsGELP32</i>	2	0	2	1	2	0
<i>CsGELP33</i>	0	0	3	6	6	2
<i>CsGELP34</i>	2	0	2	2	4	0
<i>CsGELP35</i>	5	0	0	5	3	0
<i>CsGELP36</i>	4	0	1	0	5	0
<i>CsGELP37</i>	1	0	3	2	5	1
<i>CsGELP38</i>	1	0	0	2	6	1
<i>CsGELP39</i>	2	0	1	44	3	0
<i>CsGELP40</i>	1	0	1	7	2	3
<i>CsGELP41</i>	3	0	0	5	2	0
<i>CsGELP42</i>	2	0	3	1	4	3
<i>CsGELP43</i>	6	0	7	7	3	0
<i>CsGELP44</i>	3	0	2	0	5	1
<i>CsGELP45</i>	3	0	1	3	3	1
<i>CsGELP46</i>	1	0	1	5	5	0
<i>CsGELP47</i>	3	0	1	2	6	1
<i>CsGELP48</i>	2	0	2	4	5	1
<i>CsGELP49</i>	0	0	3	4	7	0
<i>CsGELP50</i>	0	0	0	2	4	1
<i>CsGELP51</i>	5	0	0	4	5	0
<i>CsGELP52</i>	0	1	0	2	7	3
<i>CsGELP53</i>	1	0	6	6	9	2
<i>CsGELP54</i>	2	0	1	3	1	1
<i>CsGELP55</i>	3	0	3	3	3	0
<i>CsGELP56</i>	5	0	1	3	0	0
<i>CsGELP57</i>	2	0	1	3	4	0
<i>CsGELP58</i>	3	0	9	2	10	1
<i>CsGELP59</i>	1	0	3	1	5	3
<i>CsGELP60</i>	2	0	0	4	4	0
<i>CsGELP61</i>	3	0	2	6	0	0
<i>CsGELP62</i>	1	0	1	4	7	2
<i>CsGELP63</i>	1	1	7	6	2	1
<i>CsGELP64</i>	1	0	1	4	4	0
<i>CsGELP65</i>	0	0	2	5	3	0
<i>CsGELP66</i>	0	0	5	1	4	2
<i>CsGELP67</i>	3	0	0	2	3	0
<i>CsGELP68</i>	3	0	1	4	5	0
<i>CsGELP69</i>	4	0	1	5	2	0
<i>CsGELP70</i>	1	0	6	3	1	1
<i>CsGELP71</i>	3	0	0	4	2	0

表 2 茶树 *GELP* 上游 2 kb 顺式作用元件分布

Tab. 2 *Camellia sinensis* *GELP* upstream 2 kb cis element distribution

基因	乙烯应 答元件 ERE	脱水应 答元件 DRE	脱落酸 应答元 件 ABRE	逆境胁 迫应答 元件 MYB	抗寒元 件识别 位点 MYC	MYB 结 合位点 诱导干 旱 MBS
<i>CsGELP1</i>	5	1	5	3	5	0
<i>CsGELP2</i>	5	0	0	2	2	0
<i>CsGELP3</i>	3	0	2	3	3	0
<i>CsGELP4</i>	2	0	0	3	6	2
<i>CsGELP5</i>	0	0	2	3	9	0
<i>CsGELP6</i>	4	0	0	4	4	0
<i>CsGELP7</i>	0	0	0	2	7	1

续表 2

基因	乙烯应	脱水应	脱落酸	逆境胁迫	抗寒元	MYB 结
	答元件	答元件	应答元	迫应答	件识别	合位点
	ERE	DRE	件 ABRE	元件 MYB	位点 MYC	诱导干早 MBS
CsGELP72	1	1	1	2	5	1
CsGELP73	0	0	0	3	6	0
CsGELP74	1	0	0	2	2	0
CsGELP75	1	0	4	2	1	1
CsGELP76	1	0	0	1	3	2
CsGELP77	1	0	3	5	0	2
CsGELP78	6	0	2	1	7	0
CsGELP79	3	1	0	3	2	0
CsGELP80	1	0	1	4	0	1
CsGELP81	1	0	2	3	3	0
CsGELP82	4	0	1	3	3	0
CsGELP83	1	0	0	2	1	0
CsGELP84	3	1	0	0	3	1
CsGELP85	1	0	0	7	7	4
CsGELP86	0	0	1	1	1	0

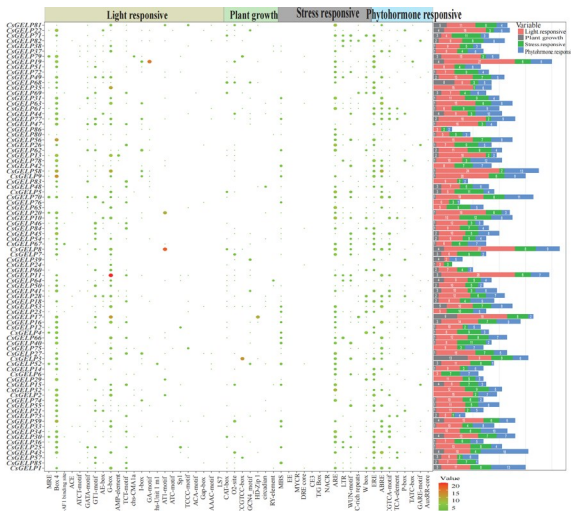


图 4 启动子气泡图

Fig. 4 The promoter bubble chart

## 2.6 茶树 GELP 家族基因热图分析

在寒冷处理下(图 5),第 7 天时 CsGELP76、CsGELP25、CsGELP2、CsGELP35、CsGELP36、CsGELP43 等基因均上调表达,相对表达量均在对照的 1.5 倍以上,其中 CsGELP25 在同组对比处理中均表现下调,推测该基因可能在植物处于寒冷环境胁迫情况下起负调节作用。

在 NaCl 处理下(图 5),CsGELP85 的表达量显著上调,是对照的 3.6 倍,CsGELP44、CsGELP13、CsGELP85、CsGELP1 这 4 个基因表现出不同程度的上调,其余基因都表现出不同程度的下调,推测这些下调基因在茶树抗高盐胁迫中起负调节作用。

在 PEG 处理下(图 5),CsGELP44、CsGELP25、CsGELP51 均上调表达,相对表达量

均在对照的 2.6 倍以上,其中 CsGELP44 最高,是对照的 12.45 倍,推测 CsGELP44 在植物干旱胁迫中起正向调节作用。

在 MeJA 处理下(图 5),CsGELP1、CsGELP55、CsGELP33、CsGELP77、CsGELP71、CsGELP66、CsGELP76、CsGELP57、CsGELP86、CsGELP15、CsGELP38、CsGELP27、CsGELP85、CsGELP41、CsGELP65、CsGELP68、CsGELP44、CsGELP52、CsGELP26 均表现为显著下调,据此推测这 19 个基因可能与茶树抵抗病虫害有关,并且起负调节作用。而 CsGELP39、CsGELP5、CsGELP32、CsGELP48、CsGELP53、CsGELP78、CsGELP63、CsGELP4、CsGELP31、CsGELP74、CsGELP22、CsGELP40、CsGELP56 这 13 个基因起正向调节作用,推测这些基因对茶树抵抗病虫害起正调节作用。

CsGELP1、CsGELP12、CsGELP14、CsGELP15、CsGELP18、CsGELP32、CsGELP55 这些基因对所有处理相对表达量均表现出下调,推测这些基因可能在植物逆境胁迫中起负调节作用。

## 3 结论

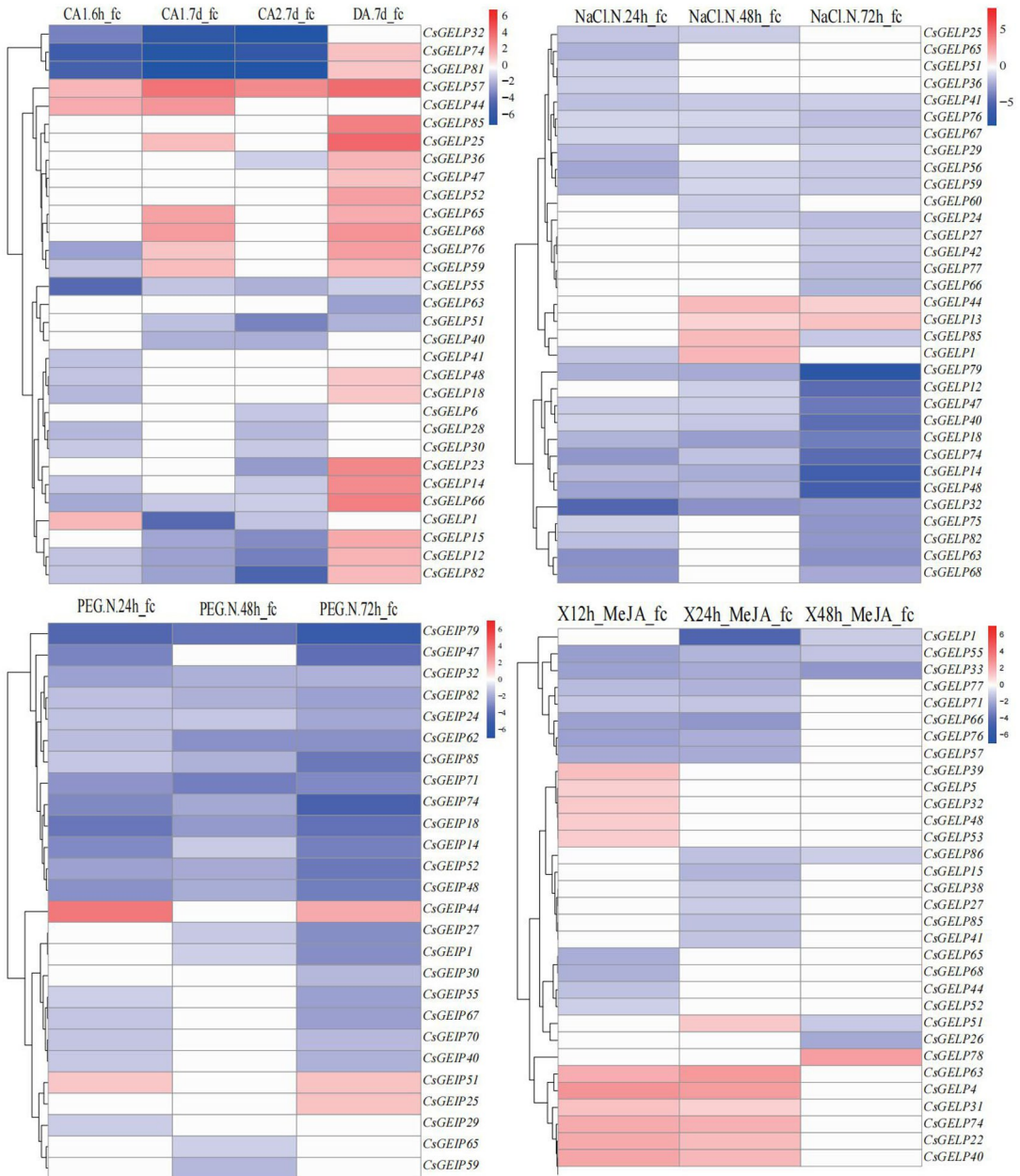
聚类分析结果表明,茶树 GELP 蛋白可分为 4 个大分支亚族 I ~ IV,CsGELP36、CsGELP68、CsGELP83、CsGELP22、CsGELP71 与拟南芥 GELP 同源性较高,说明这些基因在亲缘关系方面较为接近。

在茶树中根据基因结构中内含子分布情况可知;GELP 基因家族中存在部分基因中无内含子或者内含子数少于 3 个,CsGELP52 基因中不含内含子,因此为内含子缺失类;IV b 亚族中的大部分基因以及其他亚族内的基因为内含子富集类。

motif 分析结果表明,除 IV a 亚族的 CsGELP75 和 CsGELP40 外,其他亚族内 motif 分布的相对比较均匀,CsGELP43 和 CsGELP36、CsGELP16 和 CsGELP17、CsGELP7 和 CsGELP8、CsGELP45 和 CsGELP46 分布的数量和位置都基本相同,具有高度的保守性,我们推测在同一亚族内其结构域和功能单位大致相似。

茶树 GELP 基因中大部分含有 MYB 转录因子和 MYC 应答元件,并且多数基因中含有与 ABA 响应相关的作用元件,说明 GELP 基因与不同逆境胁迫和植物激素应答机制密切相关,并在其中行使不同的功能。



图 5 不同处理下 *GELP* 基因的表达Fig. 5 Under different processing *GELP* genes expression

现已有研究表明 *GELP* 基因在植物逆境胁迫中具有重要的作用。本研究中茶树 *GELP* 基因家族成员在寒冷、NaCl、PEG、茉莉酮酸激素的诱导下,其表达量均出现不同程度的变化,其中 *CsGELP1*、*CsGELP12*、*CsGELP14*、*CsGELP15*、*CsGELP18*、*CsGELP32*、*CsGELP55* 等基因均表达下调,表明这些基因可能在植物抗寒冷、干旱、高盐和病虫害途径中起负调节作用,前期研究表明,

#### 参考文献:

[1] SAPPL P G, HEAZLEWOOD J L, MILLAR A H. Untangling multi-gene families in plants by integrating proteomics

$\text{Ca}^{2+}$  作为第二信使参与植物多种逆境胁迫的调控机制。本试验中,PEG 处理下 *CsGELP44* 表达量显著上调,推测 *CsGELP44* 参与植物抗干旱胁迫并在其中起关键作用,是否为  $\text{Ca}^{2+}$  介导信号通路的关键基因有待进一步验证。*GELP* 家族基因在茶树抗逆境胁迫中起着重要的作用,为后续该基因在功能和作用机制上的研究奠定了基础以及通过基因手段改良茶树提供了理论依据。

- into functional genomics[J]. *Phytochemistry*, 2004, 65(11): 1517-1530.
- [2] MOORE R C, PURUGGANAN M D. The evolutionary dynamics of plant duplicate genes[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2005, 8(2): 122-128.
- [3] CANNON S B, MITRA A, BAUMGARTEN A, et al. The roles of segmental and tandem gene duplication in the evolution of large gene families in *Arabidopsis thaliana*[J]. *BMC Plant Biology*, 2004, 4: 10.
- [4] KIM K N, LEE J S, HAN H, et al. Isolation and characterization of a novel rice  $Ca^{2+}$ -regulated protein kinase gene involved in responses to diverse signals including cold, light, cytokinins, sugars and salts[J]. *Plant Molecular Biology*, 2003, 52(6): 1191-1202.
- [5] 李琳, 柳参奎. SnRK 蛋白激酶家族及其成员 SnRK2 的功能[J]. *分子植物育种*, 2010, 8(3): 547-555.  
LI Lin, LIU Cankui. The SnRK protein kinase family and the function of SnRK2 protein kinase[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2010, 8(3): 547-555.
- [6] 赵晋锋, 余爱丽, 王高鸿, 等. 植物 CBL/CIPK 网络系统逆境应答研究进展[J]. *中国农业科技导报*, 2011, 13(4): 32-38.  
ZHAO Jinfeng, YU Aili, WANG Gaohong, et al. Progress of CBL/CIPK signal system in response to stresses in plant[J]. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2011, 13(4): 32-38.
- [7] ANGKAWIDJAJA C, KANAYA S. Family I.3 lipase: bacterial lipases secreted by the type I secretion system[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2006, 63(23): 2804-2817.
- [8] AKOH C C, LEE G C, LIAW Y C, et al. GDSL family of serine esterases/lipases[J]. *Progress in Lipid Research*, 2004, 43(6): 534-552.
- [9] LEE K A, CHO T J. Characterization of a salicylic acid- and pathogen-induced lipase-like gene in Chinese cabbage[J]. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2003, 36(5): 433-441.
- [10] OH I S, PARK A R, BAE M S, et al. Secretome analysis reveals an *Arabidopsis* lipase involved in defense against *Alternaria brassicicola*[J]. *The Plant Cell*, 2005, 17(10): 2832-2847.
- [11] HONG J K, CHOI H W, HWANG I S, et al. Function of a novel GDSL-type pepper lipase gene, CaGLIP1, in disease susceptibility and abiotic stress tolerance[J]. *Planta*, 2008, 227(3): 539-558.
- [12] TAIPALENSUU J, ANDREASSON E, ERIKSSON S, et al. Regulation of the wound-induced myrosinase-associated protein transcript in *Brassica napus* plants[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1997, 247(3): 963-971.
- [13] NARANJO M A, FORMENT J, ROLDÁN M, et al. Overexpression of *Arabidopsis thaliana* LTL1, a salt-induced gene encoding a GDSL-motif lipase, increases salt tolerance in yeast and transgenic plants[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2006, 29(10): 1890-1900.
- [14] CAO Y P, HAN Y H, MENG D D, et al. Expansion and evolutionary patterns of GDSL-type esterases/lipases in Rosaceae genomes[J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2018, 18(6): 673-684.
- [15] ZHANG Z B, LI Y T, LUO Z Y, et al. Expansion and functional divergence of inositol polyphosphate 5-phosphatases in angiosperms[J]. *Genes*, 2019, 10(5): 393.
- [16] CHEPYSHKO H, LAI C P, HUANG L M, et al. Multifunctionality and diversity of GDSL esterase/lipase gene family in rice (*Oryza sativa* L. *japonica*) genome: new insights from bioinformatics analysis[J]. *BMC Genomics*, 2012, 13(1): 309.
- [17] 张在宝, 胡梦辉, 闻洁, 等. 高温胁迫对花药发育的影响及信号传导网络[J]. *生物学杂志*, 2019, 36(1): 92-95.  
ZHANG Zaibao, HU Menghui, WEN Jie, et al. The effects of heat stress on anther development and signal transduction networks[J]. *Journal of Biology*, 2019, 36(1): 92-95.
- [18] ZHANG Z B, FENG X B, WANG Y, et al. Advances in research on functional genes of tea plant[J]. *Gene*, 2019, 711: 143940.
- [19] ZHANG Z B, ZHAO Y L, FENG X B, et al. Genomic, molecular evolution, and expression analysis of NOX genes in soybean (*Glycine max*) [J]. *Genomics*, 2019, 111(4): 619-628.
- [20] ZHANG Z B, KE D X, HU M H, et al. Quantitative phosphoproteomic analyses provide evidence for extensive phosphorylation of regulatory proteins in the rhizobia-legume symbiosis[J]. *Plant Molecular Biology*, 2019, 100(3): 265-283.

责任编辑:任长江