



茶树GASA基因家族的生物信息学分析

王艳, 叶凡, 王坤, 聂嘉玲, 吴媛媛, 刘国峰, 刘慧娟

引用本文:

王艳, 叶凡, 王坤, 聂嘉玲, 吴媛媛, 刘国峰, 刘慧娟. 茶树GASA基因家族的生物信息学分析[J]. 信阳师范学院学报自然科学版, 2025, 38(1): 24–33. doi: 10.3969/j.issn.2097–583X.2025.01.004

WANG Yan, YE Fan, WANG Kun, NIE Jialing, WU Yuanyuan, LIU Guofeng, LIU Huijuan. Bioinformatics analysis of GASA gene family in tea tree[J]. Journal of Xinyang Normal University (Natural Science Edition), 2025, 38(1): 24–33. doi: 10.3969/j.issn.2097–583X.2025.01.004

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3969/j.issn.2097–583X.2025.01.004>

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>

大豆bHLH转录因子家族成员的进化及功能分化研究

Evolution and Function Divergence Analysis of the bHLH Transcription Factor Family in Soybean(Glycine max L.)

信阳师范学院学报自然科学版, 2019, 32(1): 27–38. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1003–0972.2019.01.006>

大豆BGLU基因家族全基因组鉴定与表达分析

Genome-wide Identification and Expression Analysis of BGLU Family Genes in Soybean

信阳师范学院学报自然科学版, 2019, 32(3): 372–378. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1003–0972.2019.03.006>

百脉根Rac 1基因启动子的克隆与表达分析

Cloning and Expression Analysis of the Promoter Region of Rac 1 Gene of Lotus japonicus

信阳师范学院学报自然科学版, 2018, 31(1): 46–51. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1003–0972.2018.01.009>

茶树 *GASA* 基因家族的生物信息学分析

王 艳¹, 叶 凡², 王 坤¹, 聂嘉玲¹, 吴媛媛¹, 刘国峰¹, 刘慧娟^{3*}

- (1. 信阳师范大学 生命科学院/河南省茶树生物学重点实验室, 河南 信阳 464000;
2. 浙江农林大学 林业与生物技术学院, 浙江 杭州 310000;
3. 琼台师范学院 理学院/热带生物多样性与资源利用实验室, 海南 海口 571127)

摘 要: *GASA*(Gibberellic acid-stimulated in arabidopsis)是植物特有的转录因子家族,与植物的生长、发育、抗逆密切相关。采用生物信息学方法,基于茶树的全基因组序列,共鉴定到了 29 个 *GASA* 基因,根据染色体排列,编号为 *CsGASA* 1—*CsGASA* 29。系统发育分析、保守基序分析、共线性分析、启动子元件分析及表达分析显示:*CsGASA* 分为 3 个亚家族,编码 64~218 个氨基酸;共鉴定到 6 个保守基序;有 4 个 *CsGASA* 来源于片段重复事件,5 个 *CsGASA* 来源于串联重复事件;有 53% 的启动子元件与环境响应有关;有部分 *CsGASA* 基因受到干旱、低温和盐胁迫调控;*CsGASA* 3 基因只在根处具有较高的表达量。

关键词: 茶树; *GASA* 基因; 进化分析; 生物信息学分析

中图分类号: S571.1 文献标识码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID): 

Bioinformatics analysis of *GASA* gene family in tea tree

WANG Yan¹, YE Fan², WANG Kun¹, NIE Jialing¹, WU Yuanyuan¹, LIU Guofeng¹, LIU Huijuan^{3*}

- (1. College of Life Sciences/Henan Key Laboratory of Tea Plant Biology,
Xinyang Normal University, Xinyang 464000, China;
2. College of Forestry and Biotechnology, Zhejiang Agriculture and Forestry University, Hangzhou 310000, China;
3. College of Science/Tropical Biodiversity and Bioresource Utilization Laboratory,
Qiongtai Normal University, Haikou 571127, China)

Abstract: *GASA* (Gibberellic acid-stimulated in arabidopsis) is a group of plant-specific transcription factors related to plant growth, development and stress response. Using a bioinformatics approach to explore the whole genome sequence of tea tree, 29 *GASA* genes were identified in the tea tree genome and numbered according to the chromosomal arrangement as *CsGASA* 1-*CsGASA* 29. Phylogenetic analysis, conserved motif analysis, collinearity analysis, cis-acting element analysis and expression analysis were performed to show that *CsGASA* is classified into three subfamilies and encodes 64-218 amino acids; a total of six conserved motifs are identified; four *CsGASA* are originated from segmental duplication events, and five *CsGASA* from tandem duplication events; 53% of the cis-acting elements are the key links in plant environmental response; some of *CsGASA* gene expression are response to drought, low temperature and salt stresses, and *CsGASA* 3 gene is highly expressed only in roots.

Key words: tea tree; *GASA* gene; evolutionary analysis; bioinformatics analysis

0 引言

GASA(Gibberellic acid-stimulated in arabidopsis)

蛋白是植物中特有的一类小分子蛋白,大多成员受赤霉素(GA)的调控,目前已在许多植物中被发现^[1]。*GASA* 蛋白家族的结构较为保守,一般分

收稿日期:2024-04-29;修回日期:2024-07-17;*.通信联系人,E-mail:wangyan0508@xynu.edu.cn; liuhuijuan77@126.com

基金项目:国家自然科学基金项目(81700283);信阳师范大学“南湖学者奖励计划”青年项目

作者简介:王艳(1978—),女,山东潍坊人,讲师,博士,主要从事心血管病理生理与茶树优质基因与产物的挖掘利用研究。

引用格式:王艳,叶凡,王坤,等.茶树 *GASA* 基因家族的生物信息学分析[J].信阳师范大学学报(自然科学版),2025,38(1):24-33.

WANG Yan, YE Fan, WANG Kun, et al. Bioinformatics analysis of *GASA* gene family in tea tree[J]. Journal of Xinyang Normal University (Nature Science Edition), 2025, 38(1): 24-33.

为 N 端信号肽、亲水区域及 C 端 GASA 结构域等 3 部分^[2]。N 端一般由 18~29 个氨基酸残基信号肽序列组成;信号肽后面紧邻 7~31 个极性氨基酸残基组成的亲水区域,不同的 GASA 蛋白在这段区域内的序列变化较大;C 端则是由约 60 个氨基酸组成的保守结构域,包含 12 个完全保守的半胱氨酸残基(GASA 结构域)^[3]。保守的半胱氨酸残基是维持 GASA 蛋白结构及发挥功能所必需的^[4]。

首个被发现的 GASA 基因家族成员是在赤霉素缺失的番茄(*Lycopersicon esculentum*)突变体 *gib1* 中分离鉴定的^[5],随后陆续在小麦(*Triticum aestivum*)^[6]、水稻(*Oryza sativa*)^[7]、狗尾草(*Setaria viridis*)^[8]、黑杨(*Populus deltoides* × *Populus nigra*)^[9]、葡萄(*Vitis vinifera* L.)^[10]、非洲菊(*Gerbera hybrida*)^[11]、菜豆(*Phaseolus vulgaris* L.)^[12]、矮牵牛(*Petunia hybrida*)、马铃薯(*Solanum tuberosum*)、草莓(*Fragaria ananassa*)^[15]、棉花(*Gossypium* spp)以及拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)^[17]中分离鉴定出 GASA。GASA 在维管植物中得到了鉴定,但是在绿藻和苔藓植物中缺失,这表明 GASA 的出现可能促进了植物对于干旱环境的适应^[18]。通过对已分离获得的 GASA 基因进行的分析表明,该基因家族编码的蛋白可能在植物生长发育过程中发挥重要的调控作用,包括参与种子萌发、侧根形成^[20]、茎伸长、开花时间、果实发育、生物胁迫与非生物胁迫应答以及激素信号转导^[23-24,25]等多个过程。

KO^[26]、RUBINOVICH^[27]等报道了拟南芥通过抑制 H₂O₂ 和 NO 在受伤叶片中的积累而过表达 *AtGASA 4* 来增强植株耐热性。SUN 等^[28]研究表明,*AtGASA 14* 通过调节活性氧积累参与非生物胁迫反应。其他报道^[29]表明,热诱导 *AtGASA 5* 基因表达可以促进 SA 信号调控和热休克蛋白积累。从大豆中分离得到的 *GsGASA 1* 在冷胁迫下通过促进 DELLA 蛋白的积累,从而抑制根系生长^[30]。同样,山毛榉中 *FsGASA 4* 基因的表达赋予其对盐、氧化和热胁迫的耐受性^[31]。

在水稻中,*OsGASA 1* 的最高转录水平受到盐和 ABA 胁迫的调控^[32]。同样,*OsGASA 3* 在盐胁迫下也表现出较高的转录本积累^[33]。ZHANG 等^[34]证明小麦 *TaGASA 1*(*OsGASA 1* 的同系物)受到热胁迫的调控。在可可植物中,*TcGASA 1/14* 转录本在渗透压和盐胁迫下被诱导,而 *TcGASA 16/17* 转录本则显示相反的结果^[35]。总的来

说,GASA 可以作为植物内部和外界环境信号的整合者,调控植物的发育和抗逆性。

茶树(*Camellia sinensis*)是中国、日本、印度和非洲最重要的经济作物之一,喜欢温暖潮湿的环境^[36]。低温、干旱和高盐等逆境常常影响茶树的生长发育,降低茶叶的产量和品质。近年来,随着测序技术的发展,不同茶树品种的基因组测序工作陆续完成,但是目前对于茶树中 GASA 基因的研究还未有相关报道^[37]。因此,对茶树基因组数据中的 GASA 基因进行鉴定,并对其系统发育关系、基因结构、蛋白结构、染色体分布、同源关系、启动子元件及表达谱进行分析,初步探究该基因在茶树抗逆境胁迫中的功能机制,可以为其功能验证和抗性育种工作提供参考。

1 材料与方法

1.1 茶树 GASA 基因家族成员鉴定

从 TPIA(Tea plant information archive)数据库中下载茶树基因组与蛋白组数据。从 Pfam 数据库(<http://pfam.xfam.org>)下载 GASA 蛋白结构域的隐马尔科夫文件(PF02704)。然后使用 HMMsearch(the hidden markov model, *E* 值为 10⁻¹⁰)和 BLASTP(basic local alignment search tool algorithms, *E* 值为 10⁻¹⁰)对该基因家族在茶树中的蛋白序列进行筛选。最终得到的蛋白质序列经过 SMART(Simple modular architecture research tool,<https://smart.embl.de/>)进一步验证,确保每一个蛋白序列都包含 GASA 结构域^[39]。鉴定得到的茶树 GASA 蛋白序列用于后续分析。

1.2 茶树 GASA 基因家族进化分析

根据 HMM search 和 BLASTP 两种方法的筛选和 SMART 的验证结果,从茶树基因组中鉴定得到 29 个 *CsGASA* 基因。将茶树 GASA 蛋白序列同文献中研究的拟南芥 GASA 蛋白序列组合在一起用于系统发育分析,来确定茶树中 GASA 基因家族的分类情况^[40]。使用 Muscle 对茶树和拟南芥 GASA 蛋白序列进行序列比对,然后根据最大似然法(Maximum Likelihood, ML)构建系统发育进化树,参数为泊松修正(Poisson correction),成对删除(Pairwise deletion)和 1000 次自展法重复抽样(Bootstrap replicates, random seed)。

1.3 茶树 GASA 蛋白理化性质、基因结构分析

使用 ExPASy(<https://web.expasy.org/>)

protparam/) 来计算获取 29 个茶树 GASA 蛋白的氨基酸数、等电点 (pI)、相对分子量 (MW, kDa) 的数据。通过使用 TBtools 的 Visualize Gene Structure (from GTF/GFF3 file) 板块呈现茶树 GASA 基因的结构,用于分析茶树 GASA 基因内含子的特征。

1.4 茶树 GASA 蛋白的 motif 分析

为了探究 GASA 蛋白序列中的 motif,使用 Multiple Expectation Maximization for Motif Elicitation (MEME) program v. 5. 5. 0 进行 motif 分析^[42],通过 TBtools 的 Visualize Motif Pattern (from meme.xml/mast.xml) 可视化。

1.5 茶树 GASA 基因染色体分布及共线性分析

根据数据库获得的基因在染色体上的定位信息,对茶树染色体进行定位,采用 TBtools 绘制基因在染色体上的分布图。为了研究 GASA 基因家族的扩增方式,使用 MCScanX 进行拟南芥和茶树种内及种间共线性分析,并选取典型基因绘制可视化图^[43]。

1.6 茶树 GASA 基因启动子顺式作用元件分析

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

1.7 茶树 GASA 基因组织特异性及非生物胁迫表达谱分析

从 TPIA 上获取部分 GASA 基因在 8 种重要组织器官(顶芽、花、果实、幼叶、成熟叶、老化叶、根和茎)以及在寒冷、NaCl、干旱 (PEG)、茉莉酮酸激素 (MeJA) 等 4 种非生物胁迫处理下的基因表达数据,而后通过 R 语言对数据进行处理并绘制热图,用于探究茶树组织特异性表达特征以及应对非生物胁迫的应对特征。

2 结果

2.1 茶树 GASA 基因家族

从茶树基因组中鉴定得到了 29 个 GASA 基因,这些基因片段的长度各不相同,编码的氨基酸数目为 64~218 个,其中 CsGASA 7 编码的氨基酸数目最小为 64 个,CsGASA 4 编码的氨基酸数目最多为 218 个。CsGASA 编码的氨基酸数目普遍小于 100 个(19/29),编码氨基酸数大于 130 的只有 3 个(CsGASA 28(130)、CsGASA 5 (130)、CsGASA 4 (218))。预测相对分子质量为 6. 92~24. 17 kDa,理论等电点(pI)为 8. 00~9. 79(表 1)。

表 1 茶树 GASA 基因理化性质

Tab. 1 Physicochemical properties of Camelliasinesis GASA genes

Gene Name	Gene ID	氨基酸数	MW /kDa	pI
CsGASA 1	CSS0013129	92	10 003. 77	8. 28
CsGASA 2	CSS0049048	93	9 977. 73	8. 76
CsGASA 3	CSS0035575	121	13 112. 73	9. 45
CsGASA 4	CSS0027129	218	24 174. 31	9. 35
CsGASA 5	CSS0011434	130	14 190. 66	9. 17
CsGASA 6	CSS0004458	95	11 138. 55	9. 79
CsGASA 7	CSS0003185	64	6 915. 19	9. 06
CsGASA 8	CSS0043093	88	9 435. 19	9. 09
CsGASA 9	CSS0039586	90	10 188. 10	8. 10
CsGASA 10	CSS0019253	93	10 310. 23	8. 24
CsGASA 11	CSS0043521	93	10 310. 23	8. 24
CsGASA 12	CSS0023265	91	9 825. 52	8. 46
CsGASA 13	CSS0035877	84	9 207. 87	8. 47
CsGASA 14	CSS0023499	91	9 885. 64	8. 46
CsGASA 15	CSS0012517	93	10 323. 32	8. 60
CsGASA 16	CSS0005085	101	10 548. 46	9. 15
CsGASA 17	CSS0043248	94	10 507. 31	8. 44
CsGASA 18	CSS0018789	104	11 893. 76	8. 00
CsGASA 19	CSS0023560	97	11 183. 45	9. 35
CsGASA 20	CSS0025267	89	10 059. 90	9. 14
CsGASA 21	CSS0022546	113	12 408. 66	9. 20
CsGASA 22	CSS0023001	71	7 750. 09	8. 88
CsGASA 23	CSS0050115	89	9 990. 05	9. 52
CsGASA 24	CSS0034584	102	10 922. 7	8. 65
CsGASA 25	CSS0015778	88	9 603. 34	8. 76
CsGASA 26	CSS0005476	113	12 602. 81	8. 79
CsGASA 27	CSS0025277	125	13 864. 04	8. 52
CsGASA 28	CSS0019366	130	14 200. 70	9. 17
CsGASA 29	CSS0009594	88	9 603. 34	8. 76

2.2 茶树 GASA 基因家族系统发育分析

为了进一步探究茶树 GASA 基因家族的进化关系和聚类情况,结合先前研究,利用茶树、拟南芥、水稻、烟草、葡萄的 GASA 蛋白序列,通过最大似然法构建系统发育树,并依据拟南芥的分类情况确定茶树 GASA 基因的分类(图 1)。由图 1 可知,茶树的 GASA 基因家族可以分为 3 个亚家族(Group- I、Group- II 和 Group- III),Group- I 中数目最多为 13 个,Group- III 数目最少为 6 个,Group- II 数目居中有 10 个。每个亚家族中茶树的数目均是最多,茶树 Group- I 成员数目比最少的水稻多了 10 个,茶树 Group- II 成员数目比最少的水稻和

烟草多了 6 个,茶树 Group-III 成员数目比最少的水稻和葡萄多 6 个。

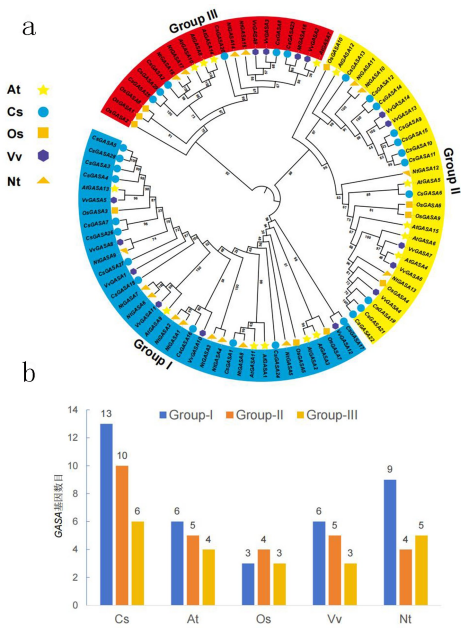


图 1 茶树、拟南芥、水稻、葡萄和烟草中 GASA 蛋白的系统发育树(a)和数目(b)

Fig. 1 The phylogenetics tree(a) and number(b) of GASAs in *Camellia sinensis*, *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa*, *Vitis vinifera* and *Nicotiana tabacum*

2.3 茶树 GASA 基因家族染色体定位和共线性

茶树的 GASA 基因家族的染色体定位分析显示,29 个 CsGASA 中有 23 个可以定位到 8 条染色体上(图 2a)。6 号、9 号、12 号染色体上各定位了 1 个 CsGASA, 10 号染色体上定位了 2 个 CsGASA, 2 号和 13 号染色体各为 3 个 CsGASA, 1 号染色体为 4 个 CsGASA, 4 号染色体上 GASA 基因数目最多为 8 个。除 4 号染色体上基因分布较为集中外,其他染色体上的 CsGASA 分布均较为分散。整体上看,除了 Group-II 中有 63% (7/11) 聚集在 4 号染色体上外, Group-I 和 Group-II 的成员没有明显的聚类分布情况。

为了探究 GASA 基因之间的同源情况,进行了茶树自身以及茶树和拟南芥的共线性分析,结果见图 2b。茶树自身经历过 4 次片段重复事件 (CsGASA 3 /CsGASA 5、CsGASA 3/CsGASA 7、CsGASA 8/CsGASA 23 和 CsGASA 18/CsGASA 27), 占比约为 24%; 5 次串联重复事件 (CsGASA 9—11 和 CsGASA 12—15), 占比约为 24%。有 3 次片段重复事件发生在 Group-I 中, 1 次片段重复事件发生在 Group-III 中, 而串联重复事件则全部发生在 Group-II 中。茶树和拟南芥中 GASA 基因

成员间的共线性较低, 只有 4 对 (AtGASA 1/CsGASA 1、AtGASA 7/CsGASA 23、AtGASA 14/CsGASA 3 和 AtGASA 14/CsGASA 5)。

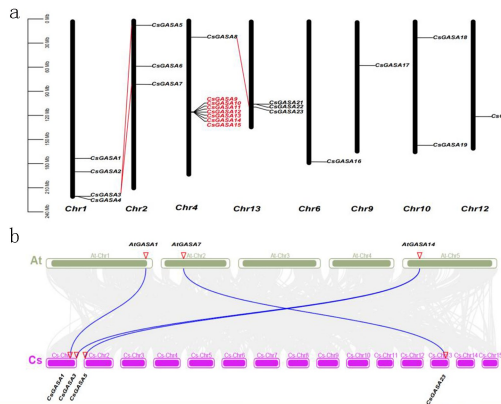


图 2 茶树 GASA 基因的染色体定位和共线性分析(a); 茶树和拟南芥 GASA 基因的共线性分析(b)

Fig. 2 Chromosome localization and collinearity analysis of GASA genes in tea tree(a); Collinearity analysis of GASA genes in tea tree and *Arabidopsis* (b)

分析茶树由片段重复事件产生的 GASA 基因对的 K_a/K_s 的影响 (表 2)。结果显示, 4 对 CsGASA 基因 (CsGASA 3/CsGASA 5、CsGASA 3/CsGASA 7、CsGASA 23/CsGASA 8 和 CsGASA 18/CsGASA 27) 的 K_a/K_s 的比值均小于 1。

表 2 茶树片段重复基因的 K_a/K_s 分析

Tab. 2 K_a/K_s analysis of segmental duplicated genes in tea tree

序号	同源基因对	K_a	K_s	K_a/K_s	重复
1	CsGASA 3 /CsGASA 5	0.20	0.70	0.29	SD
2	CsGASA 3 /CsGASA 7	0.27	1.23	0.22	SD
3	CsGASA 23 /CsGASA 8	0.25	1.00	0.25	SD
4	CsGASA 18 /CsGASA 27	0.13	0.50	0.26	SD

注:SD(Segmental duplication)为片段重复。

2.4 茶树 GASA 基因家族基因结构和蛋白结构

通过茶树基因的注释信息,利用 TBtools 进行可视化(图 3a)。分析结果显示,茶树 GASA 基因的内含子数目为 1~5 个。从亚家族来看,在 Group-I 中 CsGASA 1 为 1 个内含子, CsGASA 3 和 CsGASA 7 为 2 个内含子, CsGASA 16、CsGASA 17 和 CsGASA 24 为 3 个内含子, CsGASA 4、CsGASA 5、CsGASA 26 和 CsGASA 28 为 4 个内含子, CsGASA 18 和 CsGASA 27 则为 5 个内含子;在 Group-II 中,有一半的 (5/11) CsGASA 含有 2 个内含子, 3 个 CsGASA 含有 3 个, 3 个 CsGASA 含有 4 个内含子;在 Group-I 中,除了 CsGASA 29 含有一个内含子外,其他 CsGASA 均含有 2 个内含子。除

Group-I 成员内含子数目变化较大外,Group-II 和 Group-III 的内含子数目都较为均一。

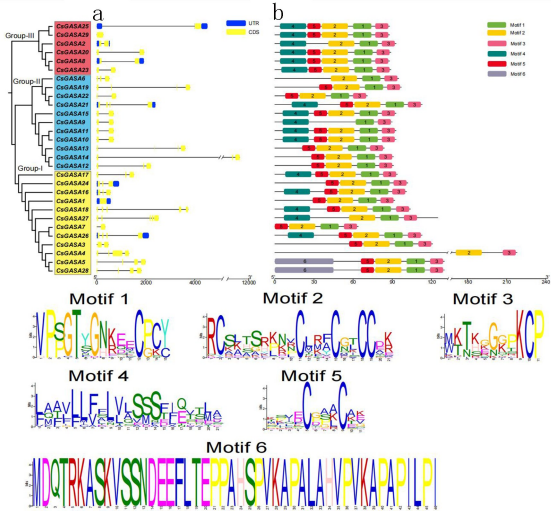


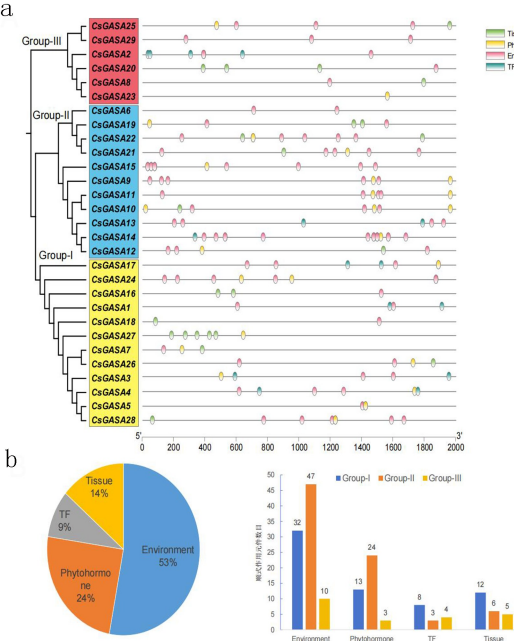
图 3 茶树 GASA 基因结构(a)和保守基序(b)
Fig. 3 Gene structure(a) and conserved motif(b) of GASA in tea tree

通过 MEME 探究了茶树 GASA 蛋白序列中的保守基序(motif),结果分析表明(图 3B)。分亚家族看,在 Group-I 中,均含有的保守基序为 motif2 和 motif3,除 CsGASA4 外其余 CsGASA 均含有 motif1,除 CsGASA4 和 CsGASA27 外其余 CsGASA 均含有 motif5,除 CsGASA1、CsGASA3、CsGASA4 和 CsGASA24 外其余 CsGASA 均含有 motif4,只有 CsGASA5 和 CsGASA28 含有 motif6;在 Group-II 中,除 CsGASA9 没有 motif2 外,其余的 CsGASA 均含有 motif1 和 motif3,除 CsGASA2、CsGASA4、CsGASA6、CsGASA15 和 CsGASA27 外其余 CsGASA 均含有 motif5, motif4 处于 CsGASA9、CsGASA10、CsGASA11、CsGASA15 和 CsGASA21。在 Group-III 中,所有 CsGASA 均含有 motif4、motif2、motif1 和 motif3,除 CsGASA2 外均含有 motif5。整体看,最保守的基序是 motif1、motif2、motif3 和 motif5,较为保守的是 motif4、motif6 为 Group-I 所特有。其中 motif1、motif2、motif3 和 motif5 均位于 C 端,且都有十分保守的半胱氨酸残基。

2.5 茶树 GASA 基因家族启动子顺式作用元件

截取茶树 GASA 基因上游 2 kbp 的序列用于启动子元件分析,结果分析表明(图 4A)。分亚家族看,在 Group-I 中,有 75%(9/12)的 CsGASA 中含有响应激素刺激的启动子元件,有 91%(11/12)的 CsGASA 中含有响应环境刺激的启动子元

件,有 50%(6/12)的 CsGASA 中含有与组织表达相关的启动子元件,有 33%(4/12)的 CsGASA 中含有转录因子结合位点;在 Group-II 中,有 81%(9/11)的 CsGASA 中含有响应激素刺激的启动子元件,所有的 CsGASA 都含有响应环境刺激的启动子元件,有 46%(5/11)的 CsGASA 中含有与组织表达相关的启动子元件,有 18%(2/11)的 CsGASA 中含有转录因子结合位点;在 Group-III 中,有 33%(2/6)的 CsGASA 中含有响应激素刺激的启动子元件,有 83%(5/6)的 CsGASA 中含有响应环境刺激的启动子元件,有 50%(3/6)的 CsGASA 中含有与组织表达相关的启动子元件,有 17%(1/6)的 CsGASA 中含有转录因子结合位点。整体看(图 4B),所有的启动子元件,有 53%和响应环境刺激相关,24%和激素刺激相关,14%是与组织表达相关的启动子元件,9%是和转录因子结合的启动子元件。



注:a)茶树 GASA 基因启动子区;
b)茶树 GASA 基因

图 4 茶树顺势作用元件类型分析

Fig. 4 Analysis of the type of cis-acting element of tea tree

2.6 茶树 GASA 基因家族不同处理下的表达分析和组织特异性表达分析

从 TPIA 上下载了茶树基因的表达数据,但是 CsCASA 基因表达数据有限,对数据进行归一化处理后绘制表达了热图(图 5)。结果表明,干旱的处理下,CsGASA 4 和 CsGASA 21 表达下调,CsGASA 2 和 CsGASA 27 表达上调,CsGASA 6 在干旱处理 72 h 后表达下调;寒冷处理下,

CsGASA 27 表达上调,CsGASA 2、CsGASA 4、CsGASA 5、CsGASA 6、CsGASA 21 和 CsGASA 28 在冷处理 7 d 时表达下调,其中 CsGASA 21 下调最为显著;NaCl 处理下,CsGASA 2 和 CsGASA 27 表达上调,CsGASA 21 在 NaCl 处理 48 h 表达下调,CsGASA 4 在盐胁迫处理 72 h 表

达下调;MeJA 处理下,差异表达不显著。组织表达数据显示(图 6),CsGASA 3 和 CsGASA 4 在根中表达显著,CsGASA 2、CsGASA 4 和 CsGASA 27 在 8 大组织中都有所表达,CsGASA 5、CsGASA 6、CsGASA 21 和 CsGASA 21 在各个组织中表达较低。

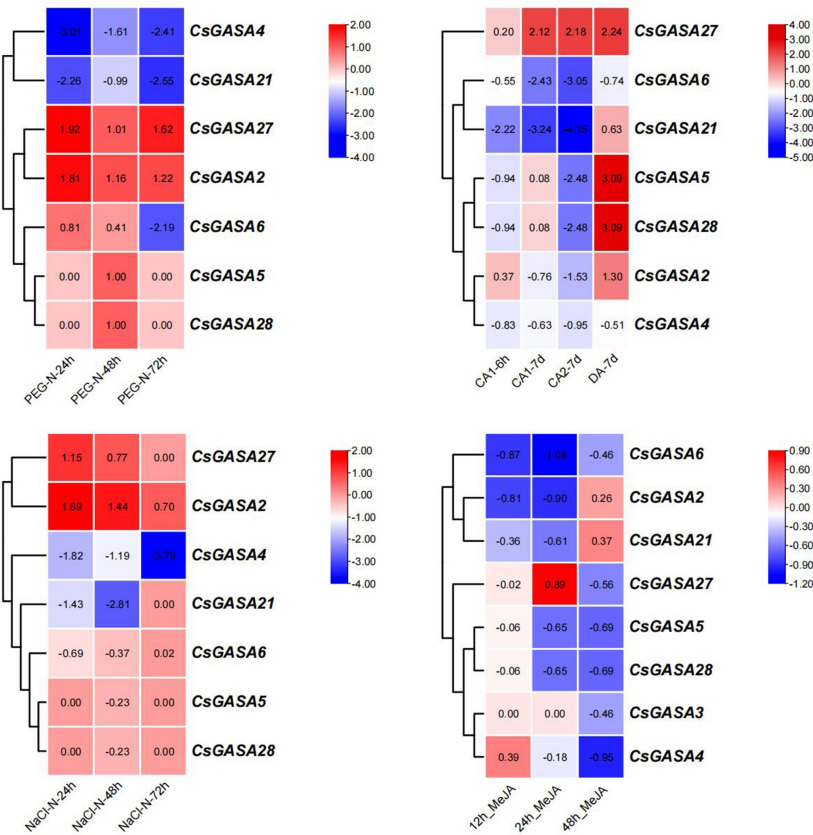


图 5 GASA 基因的表达热图
Fig. 5 Heat maps of GASA genes

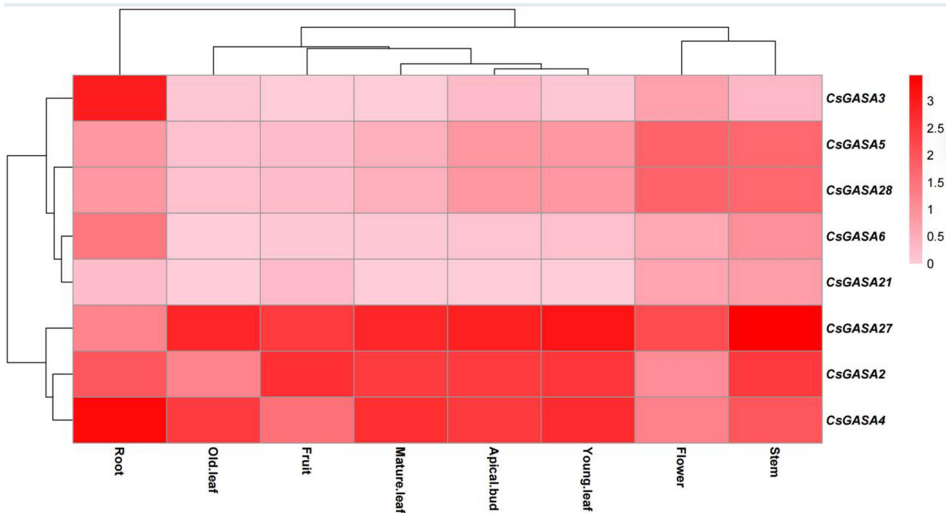


图 6 组织特异性表达分析
Fig. 6 Tissue specific expression analysis

2.7 茶树 GASA 基因家族序列比对分析

通过多序列比对来分析茶树 GASA 蛋白序列 C 端的保守程度, 结果分析显示(图 7)。和拟南芥、水稻、烟草等植物一样, CsGASA 同样具有一个十分保守的 C 端。在保守区域, 具备 GASA 基

因家族的特点,有 12 个十分保守的半胱氨酸位点。此外还具有 2 个十分保守的脯氨酸位点,1 个十分保守的络氨酸位点和 1 个十分保守的赖氨酸位点。在多序列比对时还发现 CsGASA 的 N 端信号肽序列和中间的亲水序列复杂多变且长短不一。

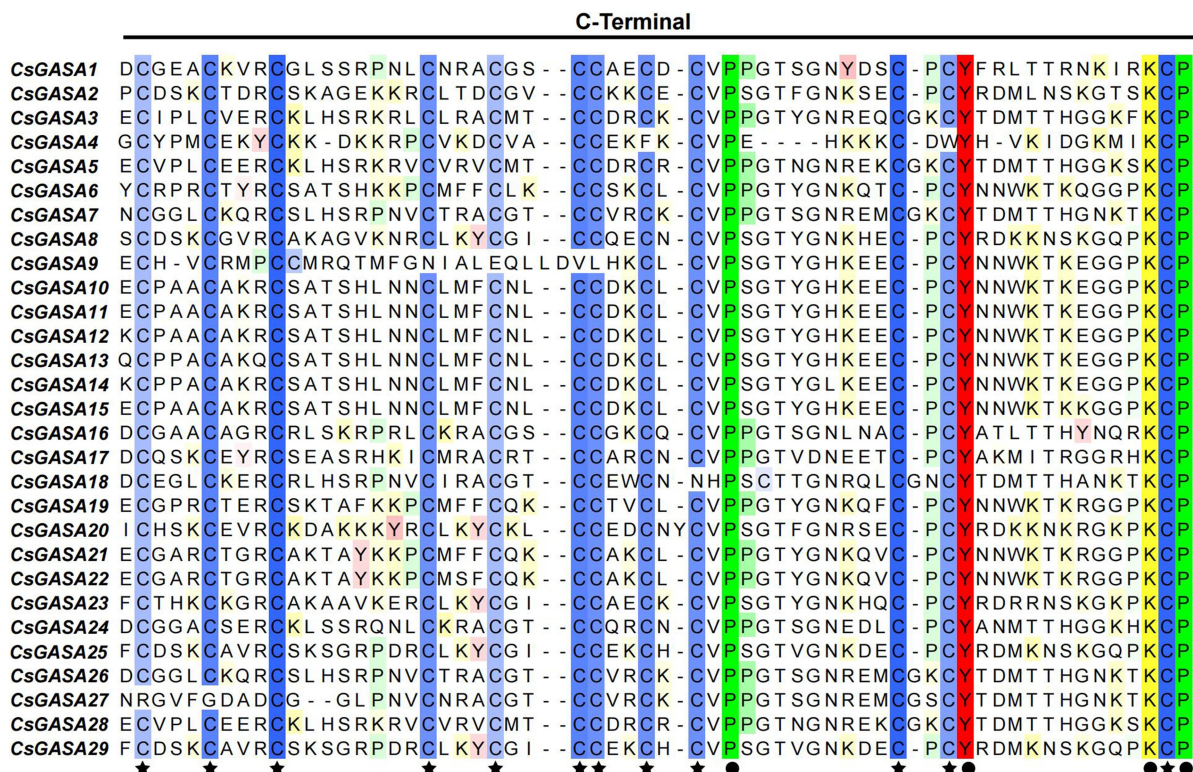


图 7 GASA 基因家族序列比对分析

Fig. 7 Sequence alignment analysis of GASA gene family

3 结论

经济作物产量的损失,主要是由环境因素造成。先前研究表明,不同亚家族的 GASA 在生物胁迫和非生物胁迫中均发挥着重要功能,与此同时,它们在植物生长发育过程的许多方面发挥着积极的作用。由于其优异的特性,在病理学和农学领域具有巨大的生物技术潜力。尽管对 GASA 家族基因在植物中的重要作用的认知取得了进展,但茶树中却没有相关报道。

基于茶树基因组数据,共鉴定到 29 个 GASA 基因,系统发育分析显示,茶树的 GASA 蛋白可以分为 3 个亚家族,同一亚家族成员间具有较高的同源性,说明这些基因在亲缘关系方面较为接近。基因复制促进了基因组的进化,串联复制和片段复制在基因家族的扩展和功能中起着重要作用。共线性分析结果显示,在 Group-Ⅰ 中经历了 3 次片段重复事件,Group-Ⅱ 中经历了 5 次串联重复事件,

Group-III 中经历了 1 次片段重复事件,而狗尾巴草则没有经历过片段重复事件和串联重复事件^[8],蓖麻中也仅仅有 1 次片段重复事件的发生^[3],小麦基因组中有 23 个 GASA 基因间存在同源关系^[6]。但是小麦作为异源多倍体植物,异源染色体间存在同源片段,从而导致小麦中存在大量的同源拷贝。这些结果说明茶树中 GASA 基因家族的扩增动力主要来源于片段重复事件和串联重复事件,基因拷贝数的增加的同时,基因功能是否产生分化还需进一步分子生物学研究。对片段重复事件产生的 CsGASA 基因对的 K_a/K_s 分析显示,4 对 CsGASA 的 K_a/K_s 的比值均小于 1,这表明在进化过程中该基因受到了纯化选择,暗示了复制基因在进化上的保守,可能具有一致性功能。

茶树 *GASA* 基因上游 2 kbp 片段的启动子元件分析表明。*CsGASA* 基因上游存在的与环境相关的启动子元件都为光响应元件;与激素相关的启动子元件都为赤霉素响应元件(ABRE);与组织表

达相关的启动子元件都为分生组织表达相关的响应元件(CAT-box);与转录因子结合相关的启动子元件都为 MYB 结合位点(MBS),MBS 为干旱诱导性的 MYB 结合位点。这表明茶树中的 GASA 可能受到单一激素(赤霉素)的调控。除了参与激素响应外,GASA 基因还在根尖分生区,侧芽生长处表达,CsGASA3 和 CsGASA4 在根部显著表达,CsGASA2、CsGASA4 和 CsGASA27 在八大组织都泛表达,但都在侧芽处显著表达,这表明

部分茶树的 GASA 有可能参与了细胞分裂的过程。逆境表达分析,CsGASA4 和 CsGASA21 在干旱胁迫下表达下调,CsGASA2 和 CsGASA27 在干旱胁迫下表达上调;CsGASA21 和 CsGASA6 在寒冷胁迫下表达下调,CsGASA27 在寒冷胁迫下表达上调;CsGASA2 和 CsGASA27 在盐胁迫下表达上调,CsGASA4 和 CsGASA21 在盐胁迫下表达下调。由此可见,这些基因有可能在茶树抗逆境胁迫中具有重要作用。

参考文献:

[1] 李雪艳,胡新颖,白一光,等. 百合 *LdGASA 1* 基因克隆与生物信息学及表达分析[J]. 分子植物育种, 2023, 21(14): 4579-4586.
LI Xueyan, HU Xinying, BAI Yiguang, et al. Cloning, bioinformatics and expression analysis of lilium *LdGASA 1* gene[J]. Molecular plant breeding, 2023, 21(14): 4579-4586.

[2] 王东胜,张小朵,尚炫辰,等. 谷子 GASA 基因家族鉴定及其对非生物胁迫的响应[J]. 植物生理学报, 2024, 60(5): 859-869.
WANG Dongsheng, ZHANG Xiaoduo, SHANG Xuanchen, et al. Identification of the GASA gene family and its response to abiotic stress in cereal grains[J]. Journal of plant physiology, 2024, 60(5): 859-869.

[3] 尹冬雪,李国瑞,曲毅鹏,等. 蓖麻 GASA 基因家族全基因鉴定及生物信息学分析[J/OL]. 分子植物育种: 1-14 (2023-03-29) [2024-07-09]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230328.1740.037.html>.
YIN Dongxue, LI Guorui, QU Yipeng, et al. Identification and bioinformatics analysis of GASA gene family in castor oil plant[J/OL]. Molecular Plant Breeding: 1-14 (2023-03-29) [2024-07-09]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230328.1740.037.html>.

[4] SYED NABI R B, LEE M H, CHO K S, et al. Genome-wide identification and comprehensive analysis of the GASA gene family in peanuts (*Arachis hypogaea* L.) under abiotic stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(23): 17117.

[5] SHI L, GAST R T, GOPALRAJ M, et al. Characterization of a shoot-specific, GA3-and ABA-regulated gene from tomato[J]. The Plant Journal, 1992, 2(2): 153-159.

[6] 吕亮杰,陈希勇,张业伦,等. 小麦 GASA 基因家族生物信息学分析[J]. 作物杂志, 2018(6): 58-67.
LYU Liangjie, CHEN Xiyong, ZHANG Yelun, et al. Bioinformatics identification of GASA gene family expression profiles in wheat[J]. Crops, 2018(6): 58-67.

[7] MUHAMMAD I, LI Wenqiang, JING Xiuqing, et al. A systematic *in silico* prediction of gibberellic acid stimulated GASA family members; A novel small peptide contributes to floral architecture and transcriptomic changes induced by external stimuli in rice[J]. Journal of Plant Physiology, 2019, 234/235: 117-132.

[8] 冯冠楠,安聪,丁鋈嘉,等. 狗尾草 GASA 基因家族鉴定及其在不同逆境下表达模式分析[J]. 草地学报, 2022, 30(6): 1379-1387.
FENG Guannan, AN Cong, DING Yunjia, et al. Characterization and analysis of GASA gene family and response to abiotic stress in *Setaria viridis*[J]. Acta Agrestia Sinica, 2022, 30(6): 1379-1387.

[9] 赵腾,夏新莉,尹伟伦. 黑杨 GASA 基因的克隆和功能分析[J]. 广东农业科学, 2012, 39(8): 138-140, 144.
ZHAO Teng, XIA Xinli, YIN Weilun. Cloning and functional analysis of GASA gene in poplar[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2012, 39(8): 138-140, 144.

[10] AHMAD B, YAO Jin, ZHANG Songlin, et al. Genome-wide characterization and expression profiling of GASA genes during different stages of seed development in grapevine (*Vitis vinifera* L.) predict their involvement in seed development[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(3): 1088.

[11] 刘小飞,王小菁,彭建宗. 非洲菊花瓣 GASA 家族基因的克隆及表达分析[J]. 园艺学报, 2019, 46(11): 2257-2264.

- LIU Xiaofei, WANG Xiaojing, PENG Jianzong. Cloning and expression analysis of GASA family genes in petals of *Gerbera hybrida*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2019, 46(11): 2257-2264.
- [12] BÜYÜK I, OKAY A, GORSKA M, et al. Identification and characterization of the pvul-GASA gene family in the *Phaseolus vulgaris* and expression patterns under salt stress[J]. *Turkish Journal of Botany*, 2021, 45(7): 655-670.
- [13] BEN-NISSAN G, LEE J Y, BOROHOF A, et al. GIP, a *Petunia hybrida* GA-induced cysteine-rich protein: A possible role in shoot elongation and transition to flowering[J]. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*, 2004, 37(2): 229-238.
- [14] NAHIRNAK V, RIVAROLA M, GONZALEZ DE URRETA M, et al. Genome-wide analysis of the snakin/GASA gene family in *Solanum tuberosum* cv. kennebec[J]. *American Journal of Potato Research*, 2016, 93(2): 172-188.
- [15] DE LA FUENTE J I, AMAYA I, CASTILLEJO C, et al. The strawberry gene *FaGAST* affects plant growth through inhibition of cell elongation[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2006, 57(10): 2401-2411.
- [16] LIU Zhihao, ZHU Li, SHI Haiyan, et al. Cotton *GASL* genes encoding putative gibberellin-regulated proteins are involved in response to GA signaling in fiber development[J]. *Molecular Biology Reports*, 2013, 40(7): 4561-4570.
- [17] 张盛春, 王小菁. 拟南芥 DELLA 下游的 GASA 基因表达研究[J]. *科学通报*, 2008, 53(22): 2760-2767.
- ZHANG Shengchun, WANG Xiaojing. Expression study of GASA gene downstream of DELLA in *Arabidopsis*[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2008, 53(22): 2760-2767.
- [18] GARCÍA A N, AYUB N D, FOX A R, et al. Alfalfa snakin-1 prevents fungal colonization and probably coevolved with rhizobia[J]. *BMC Plant Biology*, 2014, 14: 248.
- [19] AHMAD B, YAO Jin, ZHANG Songlin, et al. Genome-wide characterization and expression profiling of GASA genes during different stages of seed development in grapevine (*Vitis vinifera* L.) predict their involvement in seed development[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(3): 1088.
- [20] ZIMMERMANN R, SAKAI H, HOCHHOLDINGER F. The gibberellic acid stimulated-like gene family in maize and its role in lateral root development[J]. *Plant Physiology*, 2010, 152(1): 356-365.
- [21] ZHANG Shengchun, YANG Chengwei, PENG Jianzong, et al. GASA5, a regulator of flowering time and stem growth in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2009, 69(6): 745-759.
- [22] MOYANO-CANETE E, BELLIDO M L, GARCÍA-CAPARRÓS N, et al. FaGAST2, a strawberry ripening-related gene, acts together with FaGAST1 to determine cell size of the fruit receptacle[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2013, 54(2): 218-236.
- [23] HAN Shou, JIAO Zhiyin, NIU Mengxue, et al. Genome-wide comprehensive analysis of the GASA gene family in populus[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(22): 12336.
- [24] ZHANG Shengchun, WANG Xiaojing. One new kind of phytohormonal signaling integrator: Up-and-coming GASA family genes[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2017, 12(2): e1226453.
- [25] RUBINOVICH L, RUTHSTEIN S, WEISS D. The *Arabidopsis* cysteine-rich GASA5 is a redox-active metalloprotein that suppresses gibberellin responses[J]. *Molecular Plant*, 2014, 7(1): 244-247.
- [26] KO C B, WOO Y M, LEE D J, et al. Enhanced tolerance to heat stress in transgenic plants expressing the GASA 4 gene[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2007, 45(9): 722-728.
- [27] RUBINOVICH L, WEISS D. The *Arabidopsis* cysteine-rich protein GASA4 promotes GA responses and exhibits redox activity in bacteria and in planta[J]. *The Plant Journal*, 2010, 64(6): 1018-1027.
- [28] SUN Shulan, WANG Haoxiang, YU Hongmei, et al. GASA14 regulates leaf expansion and abiotic stress resistance by modulating reactive oxygen species accumulation[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(6): 1637-1647.
- [29] ZHANG Shengchun, WANG Xiaojing. Overexpression of GASA5 increases the sensitivity of *Arabidopsis* to heat stress[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2011, 168(17): 2093-2101.
- [30] LI Kunlun, BAI Xi, LI Yong, et al. GsGASA1 mediated root growth inhibition in response to chronic cold stress is marked by the accumulation of DELLAs[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2011, 168(18): 2153-2160.
- [31] ALONSO-RAMÍREZ A, RODRÍGUEZ D, REYES D, et al. Evidence for a role of gibberellins in salicylic acid-modulated early plant responses to abiotic stress in *Arabidopsis* seeds[J]. *Plant Physiology*, 2009, 150(3): 1335-1344.
- [32] LEE S C, HAN S K, KIM S R. Salt-and ABA-inducible OsGASR1 is involved in salt tolerance[J]. *Journal of Plant*

- Biology, 2015, 58(2): 96-101.
- [33] LEE S C, KIM S J, HAN S K, et al. A gibberellin-stimulated transcript, OsGASR1, controls seedling growth and α -amylase expression in rice[J]. Journal of Plant Physiology, 2017, 214: 116-122.
- [34] ZHANG Liyuan, GENG Xiaoli, ZHANG Haiyan, et al. Isolation and characterization of heat-responsive gene TaGASR1 from wheat (*Triticum aestivum* L.)[J]. Journal of Plant Biology, 2017, 60(1): 57-65.
- [35] ABDULLAH, FARAJI S, MEHMOOD F, et al. The GASA gene family in cacao (*Theobroma cacao*, *Malvaceae*): Genome wide identification and expression analysis[J]. Agronomy, 2021, 11(7): 1425.
- [36] JIN Jieyang, ZHAO Mingyue, JING Tingting, et al. (Z)-3-hexenol integrates drought and cold stress signaling by activating abscisic acid glucosylation in tea plants[J]. Plant Physiology, 2023, 193(2): 1491-1507.
- [37] 程琳, 郝艳林, 曹思睿, 等. 茶树基因组研究进展[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版), 2021, 34(4): 606-613.
- CHENG Lin, HAO Yanlin, CAO Sirui, et al. Advances in genome research of tea plant[J]. Journal of Xinyang Normal University (Natural Science Edition), 2021, 34(4): 606-613.
- [38] FINN R D, COGGILL P, EBERHARDT R Y, et al. The Pfam protein families database: Towards a more sustainable future[J]. Nucleic Acids Research, 2016, 44(D1): D279-D285.
- [39] LETUNIC I, DOERKS T, BORK P. SMART: Recent updates, new developments and status in 2015[J]. Nucleic Acids Research, 2015, 43(D1): D257-D260.
- [40] LI Zhaowu, GAO Junping, WANG Genhong, et al. Genome-wide identification and characterization of GASA gene family in *Nicotiana tabacum*[J]. Frontiers in Genetics, 2022, 12: 768942.
- [41] CHEN Chengjie, CHEN Hao, ZHANG Yi, et al. TBtools: An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. Molecular Plant, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [42] BAILEY T L, BODEN M, BUSKE F A, et al. MEME SUITE: Tools for motif discovery and searching[J]. Nucleic Acids Research, 2009, 37(S2): W202-W208.
- [43] WANG Yupeng, TANG Haibao, DEBARRY J D, et al. MCScanX: A toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity[J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40(7): e49.

责任编辑:任长江