Botanical Research 植物学研究, 2020, 9(3), 169-179
Published Online May 2020 in Hans. http://www.hanspub.org/journal/br
https://doi.org/10.12677/br.2020.93021

Hans汉斯

Identification and Expression Analysis of MCU Protein Family Genes in Sorghum Bicolor

Liwei Gu

Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing Heilongjiang
Email: dulianyuji@qq.com

Received: Mar. 26th, 2020; accepted: May 2nd, 2020; published: May 9th, 2020

Abstract

MCU is an important part of Ca^{2+}channel uniporter complex. It plays a regulatory role in intracellular Ca^{2+} signal transduction and cell aging pathway. However, up to now, few studies were reported about the MCU gene family in plant. Hence, we used bioinformatic method to screen MCU family genes in sorghum genome, and identified a total of 4 SbMCU genes. Chromosomal location and synteny analysis revealed that 4 SbMCUs located on 3 chromosomes, and possessed 1 gene duplication events. Analysis of the Ka (non-synonymous substitution rate)/Ks (synonymous substitution rate) ratios suggested that the duplication of SbMCU genes mainly underwent purifying selection. We also suggested that SbMCUs family protein sequences were highly conserved, including three conserved functional domains (Mitochondrial calcium uniporter, PF04678), 10 conserved motifs and at 2 transmenbrane domains. Furthermore, we further constructed a phylogenetic tree, and found that they were clustered into two subgroups. Expression patterns analysis indicated that SbMCUs family genes were differentially expressed in various tissues, and the expression of SbMCU5.2 was the highest. Expression profile chips of ABA, PEG (osmotic stress) and drought stresses analysis found that SbMCU5.1 of subgroup II was significantly responsive to ABA, PEG and drought stresses. After drought treatment, the expression of SbMCU5.1 in sensitive genotype was the highest up-regulated (log2 fold change = 5.41), but there were few components associated with the response in the SbMCU5.1 promoter. These results could provide new valuable information and will facilitate further research.

Keywords

MCU, Sorghum Bicolor, Genome-Wide Analysis, Expression Analyses

高粱MCU蛋白家族基因鉴定及表达分析

谷利伟

文章引用: 谷利伟. 高粱 MCU 蛋白家族基因鉴定及表达分析[J]. 植物学研究, 2020, 9(3): 169-179.
DOI: 10.12677/br.2020.93021

黑龙江八一农垦大学，黑龙 江大庆
Email: dulianyuji@qq.com

收稿日期：2020年3月26日；录用日期：2020年5月2日；发布日期：2020年5月9日

摘 要

MCU是细胞Ca^{2+}通道Uniporter复合物的重要组分，在胞质内Ca^{2+}的信号转导以及细胞衰老途径都具有调控作用。但目前为止，植物中MCU家族的研究很少被报道。为阐明高粱中MCU蛋白的功能，本研究以生物信息为应用手段，筛选并鉴定出4个SbMCUs家族成员。通过染色体定位及同源性分析得出，SbMCUs家族成员分布在3条染色体上，且仅存在一对复制基因；并通过Ka/Ks分析可知SbMCUs家族基因的进化经受纯化选择压力。保守性分析得出，SbMCUs基因家族包含1个功能结构域，即Mitochondrial Calcium Uniporter (PF04678)；10个保守结构域和2个跨膜结构域。系统进化树分析将SbMCUs家族分为2个亚组，Subgroup I和Subgroup II。表达模式分析可知，SbMCUs基因家族在不同组织器官和生长发育阶段的表达量不同，其中SbMCU5.2的表达量最高。ABA、PEG (渗透胁迫)和干旱表达谱芯片数据分析发现，Subgroup II中SbMCU5.1对ABA、PEG和干旱胁迫均有明显响应，且在干旱胁迫时，Sensitive Genotype的表达量上调最高(Log2变化倍数=5.41)，但SbMCU5.1启动子中响应的相关元件并不多。本研究结果为MCU基因家族提供了新的研究方向，并为后续研究提供了重要依据。

关键词

MCU，高粱，家族分析，表达分析

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.
This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).
http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Open Access

1. 引言

在 20 世纪 70 年代，提出了钙离子作为胞内重要信使分子。多年来，大量的研究发现细胞的很多功能都与 Ca^{2+}有着密不可分的关系[1]。而第一个发现参与 Ca^{2+}转运的细胞器是线粒体[2] [3]。线粒体的 Ca^{2+}摄取主要是通过内膜上的线粒体钙单向转运蛋白(Mitochondrial Calcium Uniporter, MCU)完成的。2011 年，MCU 首次在《Nature》被发布并提出，它是一个高度选择性的钙离子通道蛋白[4] [5] [6]，它能够顺着电化学梯度来转运 Ca^{2+}，而不需要消耗或者偶联其他离子的转运，但需要 MICU1 (Mitochondrial Calcium Uptake 1)的相互作用[7]。多年来，针对 MCU 的研究多集中在动物，植物中虽也发现了同源蛋白，但相关研究甚少。

Stael 等[8]发现拟南芥中有 6 个 MCU 同源蛋白，但这些蛋白在线粒体中的功能目前尚不清楚。直至 2019 年，Enrico 等[9]发现 AtMCU6 (cMCU)能把特定的应激信号转化为调节叶绿体基质 Ca^{2+}信号来响应环境。针对除模式植物拟南芥外，科研工作者只对梨的 MCU 基因家族进行了系统全面地研究，共鉴定出 7 个 PbrMCU 基因，并将其分成了两个亚组；其中，PbrMCU3、PbrMCU4 和 PbrMCU7 在梨的成熟过程中发挥重要作用[10]。可见，MCU 家族在不同物种的植物中并未做过系统的分析和鉴定，它的结构和功能还存在大量的挖掘信息。

高粱(Sorghum bicolor)是世界第五大禾谷作物，除作为粮食外，还可用作饲料、染料和工业淀粉等，具有很大的应用价值[11]。然而，盐碱、低温和干旱等逆境严重影响高粱的生长和应用价值。目前，高粱全基因组测序已经完成，为从全基因组水平揭示高粱重要基因家族的功能奠定了重要基础。因此，本研究以MCU 为研究对象，利用生物信息学手段挖掘并分析高粱 MCU 家族基本成员信息、系统进化及表达模式，为后续深入解析 SbMCU 基因在多种逆境环境应答中生物学功能和分子机制提供了重要参考和依据。

2. 材料与方法

2.1. SbMCUs 家族成员全基因组鉴定

利用查询文献获得拟南芥(Arabidopsis thaliana) AtMCUs 家族的蛋白序列，同源比对 Phytozome 数据库(https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html)、GRAMENE 数据库(http://www.gramene.org/)和 NCBI 数据库(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)获得高粱 MCU 基因相关的信息，同时通过 HMMER3.0 软件进行比对搜索，人工去除冗余蛋白序列。利用 SMART(http://smart.embl-heidelberg.de/)和 NCBI 中的 Conserved Domains 程序(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi)预测并分析上述候选蛋白序列的保守结构域，进一步确定高粱 MCU 蛋白家族成员。同时，高粱 MCU 蛋白的分子量和等电点基本信息应用 ExPASy 数据库(http://www.expasy.org/)进行分析。高粱 MCU 蛋白的亚细胞定位应用 Softberry (http://linux1.softberry.com/berry.phtml)中的 ProtComp 程序进行预测。高粱 MCU 蛋白的跨膜结构域应用 TMHMM (http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/)进行预测。

2.2. MCUs 蛋白进化分析及 SbMCUs 蛋白间系统进化分析

利用 MEGA 5.1 软件内置的 Clustal W 程序对拟南芥、水稻和高粱 MCUs 蛋白进行多重序列比对，生成.meg 格式文件，然后采用邻接法(Neighbor-Joining, NJ)进行聚类分析并构建系统进化树，其中，Bootstrap Method 值设为 1000，其余参数为默认，以分析不同物种蛋白系统间的亲缘关系及进化关系。同理，单独对获得 SbMCUs 蛋白序列进行多重序列比对，采用 NJ 法构建进化树。

2.3. SbMCUs 基因的定位和重复

SbMCUs 基因复制关系应用植物基因组复制数据库 PGDD(http://chibba.agtec.uga.edu/duplication/)获得，进一步分析家族成员间的 Ka (非同义替换率)和 Ks (同义替换率)之间的关系。结合 SbMCUs 基因在染色体上的位置，采用 Perl 语言的软件包 Circis 进行可视化分析。

2.4. SbMCUs 基因结构及蛋白保守结构域分析

利用从 Phytozome 上已下载的 SbMCUs 基因家族 DNA 和 CDS 序列，应用 GSDS 软件(http://gsds.cbi.pku.edu.cn/)绘制外显子－内含子结构图。SbMCUs 家族功能结构域信息从 Phytozome 上直接获取，蛋白序列的保守基序分析采用 MEME 在线软件(http://meme-suite.org/)预测，参数设置如下：Maximum number of motifs 为 15；Occurrences of a single motif 为 zero or one per sequence。

2.5. SbMCUs 基因表达量分析

利用 Phytozome 数据库对注释的 SbMCUs 基因家族 Expression 进行分析，使用 Multiexperiment Viewer (MeV4)软件(http://www.tm4.org/mev.html)进行聚类并绘制热图。

2.6. 干旱和高温逆境下 SbMCUs 基因表达分析

PEG、ABA 胁迫和干旱胁迫转录组数据均从 NCBI 的 GEO 数据库获取。GEO 登录号分别为 GSE30249

[12]和 GSE80699 [13]。分别从中提取 SbMCUs 基因家族成员在不同组织及不同逆境胁迫处理下的表达数据，以 Control 为对照，Log2 (变化倍数)为差异表达基因。利用 TBTools 进行热图绘制。

2.7. SbMCUs 基因启动子区域顺式作用元件分析

利用 New PLACE (https://www.dna.affrc.go.jp/PLACE/?action=newplace)检测 SbMCUs 基因上游 1000 bp 启动子序列，获得 SbMCUs 基因启动子中与逆境应答相关的顺式作用元件。

3. 结果与分析

3.1. SbMCUs 家族成员全基因组鉴定

利用 AtMCUs 家族成员蛋白序列进行 blastp 比对，从 Phytozone 搜索 SbMCUs 蛋白序列，利用 PFAM、SMART 和 NCBI 分析蛋白保守结构域，去掉不完整结构域的序列，获得 4 个 SbMCUs 家族成员(表 1，SbOSCA1-SbOSCA5.2)。前人研究表明，拟南芥 OSCA 家族基因为 6 个[8]，梨有 7 个[10]。可见，SbMCUs 基因家族成员数目较少。

如表 1 所示，SbMCU5.1 和 SbMCU5.2 均定位在 1 号染色体上，虽然基因组序列差异较大，但氨基酸序列差异不大；SbMCU1 和 SbMCU2 分别定位在 3 号和 8 号染色体上，两者的基因组序列差异较大，致使等电点和分子量差异也较大。TMHMM 预测发现 SbMCUs 家族含有 2 个跨膜结构域(除 SbMCU5.1 外)。Softberry 分析发现 SbMCUs 家族蛋白均定位在很多细胞器上，但根据前人已有的研究结果显示，MCU 蛋白定位于叶绿体或线粒体中[9] [14]，说明 SbMCUs 家族的亚细胞定位需要后续实验加以验证。

Table 1. Detailed information of the MCU family genes in *Sorghum bicolor*
表 1. SbMCUs 基因家族成员信息

序号	基因名	位点	染色体	染色体位置	基因长度	氨基酸	等电点	分子量	跨膜结构域	亚细胞定位
Code	Gene name	Gene locus	Chromo-some	Chromosome location	Gene length (bp)	Protein length (aa)	pI	Mv (kDa)	TM	Subcellular localization
1	SbMCU1	Sb03g037980	3	65864989-65867979	2991	225	8.4	25900.95	2	Extr/Chlo/Pero/ER/Mito
2	SbMCU2	Sb08g002020	8	1983975-1986149	2175	291	9.22	33079.36	2	Extr/Pero/Mito/Golgi/Cyto/ER/Chlo
3	SbMCU5.1	Sb01g042210	1	72630740-72632041	1302	340	9.14	36874.58	0	Extr/Pero/Golgi/Mito/Cyto/Chlo
4	SbMCU5.2	Sb01g017910	1	18474034-18477463	3430	348	9.07	37860.64	2	Extr/Pero/Chlo/ER/Mito/Golgi

Note: Chlo: Chloroplast; Mito: Mitochondria; Nucl: Nucleus; Cyto: Cytoplasm; Pero: Peroxisome; ER: Endoplasmic reticulum; Extr: Extracellular; Golgi: Golgi
注：Chlo：叶绿体；Mito：线粒体；Cyto：细胞质；Pero：过氧化物酶体；ER：内质网；Extr：细胞外；Golgi：高尔基体

3.2. SbMCUs 基因家族进化关系分析

为了揭示 SbMCUs 基因家族的进化关系，以拟南芥和水稻 MCU 家族基因作为参考，构建了系统进化树。对进化树进行拓扑结构分析发现(图 1)，15 个 MCU 基因被分为 2 个亚组(Subgroup I 和 Subgroup II)。每个亚组中都包含了双子叶在植物拟南芥和单子叶植物水稻、高粱中至少两个 MCU 家族成员，说明 MCU 家族的分化时间早于单、双子叶植物的分化时间。

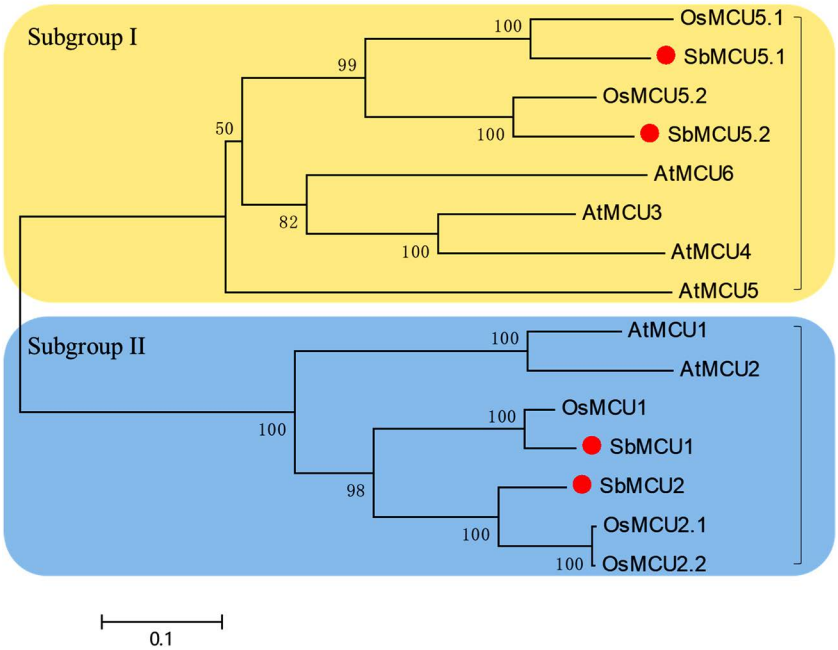


Figure 1. Phylogenetic relationship of the MCUs gene family from sorghum, Arabidopsis and rice
图 1. 高粱、拟南芥和水稻 MCUs 基因家族进化关系分析

3.3. SbMCUs 基因家族染色体定位及基因复制分析

根据高粱基因组信息，对 4 个 MCU 基因进行了染色体定位分析(图 2)。结果发现 MCU 分布在 3 条染色体上，其中 1 号染色体上有 2 个。

Note: The red line within chromosomes represents the location of SbMCUs, the blue line indicates duplication. 10 Arabic numerals correspond to 10 chromosomes of sorghum, respectively
注：染色体内的红线段表示 SbMCUs 所在的位置，蓝色连线表示发生复制的基因，10 个阿拉伯数字分别对应高粱的 10 条染色体

Figure 2. Chromosomal localization of SbMCUs genes
图 2. 高粱 MCU 家族基因染色体定位

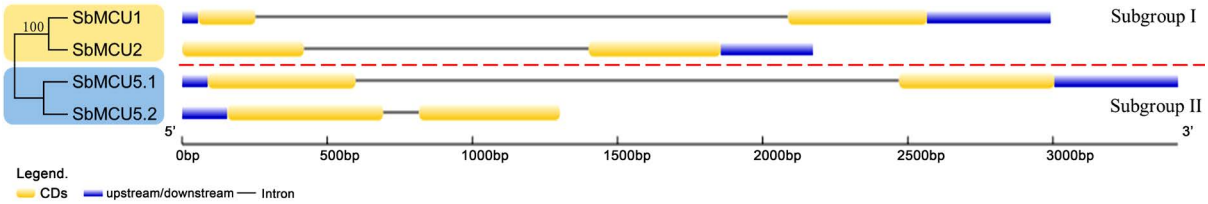
利用植物基因组复制数据库 PGDD 分析基因复制情况(表 2)。结果发现，SbMCUs 基因家族只有一对复制基因(SbMCU1 和 SbMCU2)；结合它们在染色体上的分布情况，判断它们以片段复制的方式实现进化，SbMCU1 和 SbMCU2 的 Ka/Ks 为 0.37，小于 0.5，说明基因发生片段复制后，高粱基因经历了强烈的纯化选择，说明 SbMCUs 家族基因在结构上比较保守。

Table 2. Informations of gene duplication
表 2. 复制基因信息

复制基因 Gene duplication	染色体 Chromosome	复制类型 Duplicate type	Ka	Ks	Ka/Ks
SbMCU1 和 SbMCU2	3/8	片段复制	0.2929	0.7994	0.367

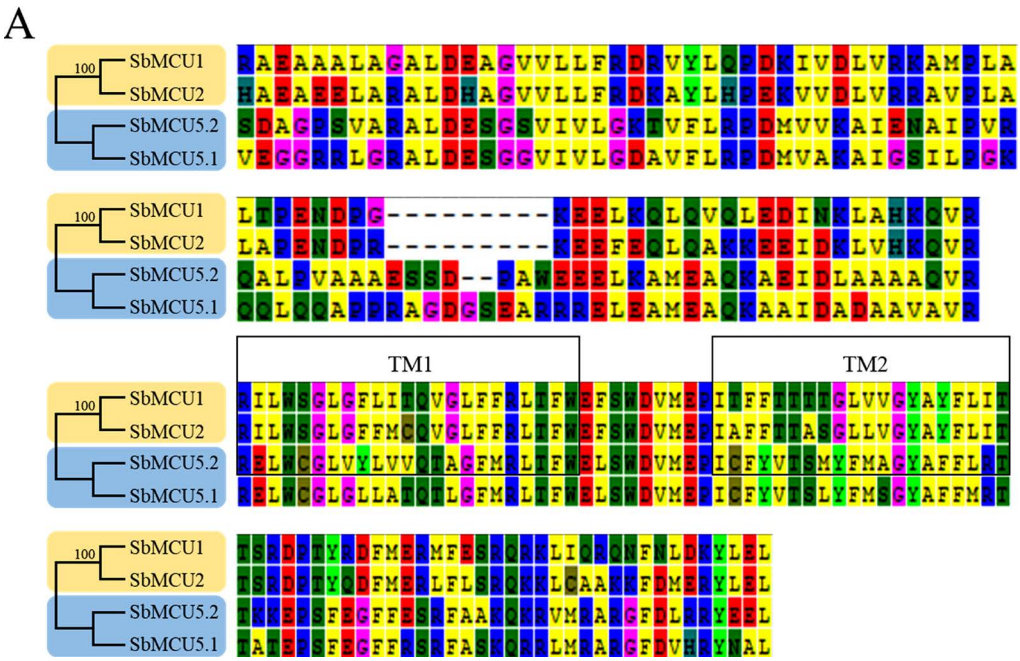
3.4. SbMCUs 家族基因结构分析

为了进一步鉴定不同组间的 SbMCUs 基因保守性和进化关系，本文对 SbMCUs 家族成员之间外显子和内含子分布的差异进行了比较(图 3)。结果发现，SbMCUs 家族均含有 1 个内含子和两个外显子；Subgroup I 中，SbMCU2 没有 5’-UTR，Subgroup II 中，SbMCU5.2 没有 3’-UTR。



Note: Yellow and blue boxes represented exons and lines represented introns
注：蓝色框代表非编码区，黄色框代表外显子，横线代表内含子

Figure 3. Gene architecture and phylogenetic analyses of SbMCUs genes
图 3. SbMCUs 家族基因的进化树及结构分析



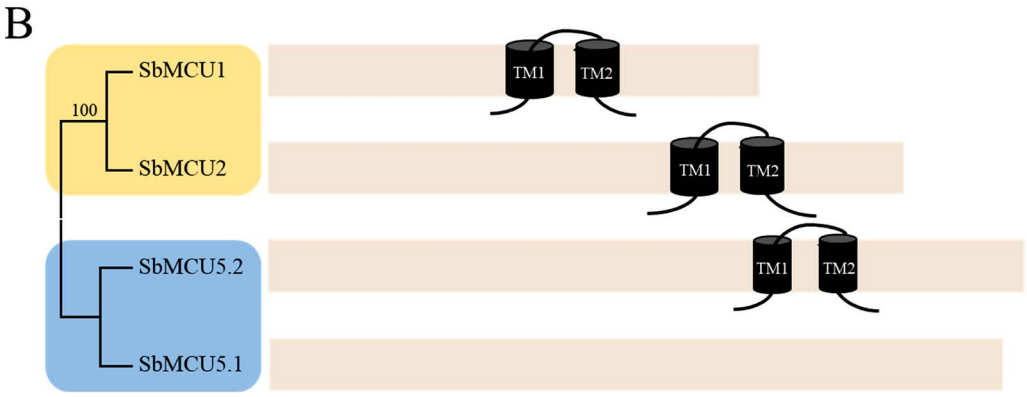


Figure 4. Transmembrane domain prediction and multiple sequence alignment of conserved region in SbMCUs. (A) Multiple sequence alignment of the MCU conserved region in SbMCUs. The transmembrane regions are marked by black lines; (B) Transmembrane domain prediction of the SbMCUsproteins

图 4. SbMCUs 家族功能结构域蛋白序列保守性和跨膜结构域分析。(A) SbMCUs 家族 MCU 功能结构域蛋白序列比对。黑色框标注的为跨膜结构域；(B) SbMCUs 蛋白跨膜结构域预测

3.5. SbMCUs 家族蛋白序列保守性分析

通过氨基酸多重序列比对发现，SbMCUs 家族蛋白具有高度的序列保守性，特别是 Mitochondrial Calcium Uniporter (MCU，PF04678)结构域(图 4(A))。TMHMM 在线软件预测 SbMCUs 蛋白的跨膜结构域，发现 SbMCUs 家族蛋白有 2 个跨膜结构域，除 SbMCU5.1 外，而且跨膜结构域均在 Mitochondrial Calcium Uniporter 结构域中(图 4(B))。

3.6. SbMCUs 家族成员蛋白保守结构域分析

为进一步明确 SbMCUs 家族成员的蛋白结构，分析了其功能结构域。如图 5(A)所示，SbMCUs 家族成员具有高度保守的 1 个功能结构域，即 Mitochondrial Calcium Uniporter (MCU，PF04678)。

为了进一步分析 SbMCUs 家族的保守性，利用 MEME 软件，鉴定了保守基序。如图 5(B)所示，每个亚组的蛋白序列都高度保守，而不同亚组之间有一些差异，如 SbMCU5.1 和 SbMCU5.2 (Subgroup II)比 SbMCU1 和 SbMCU2 (Subgroup I)多了两个基序，为 Motif 8 和 Motif 9。

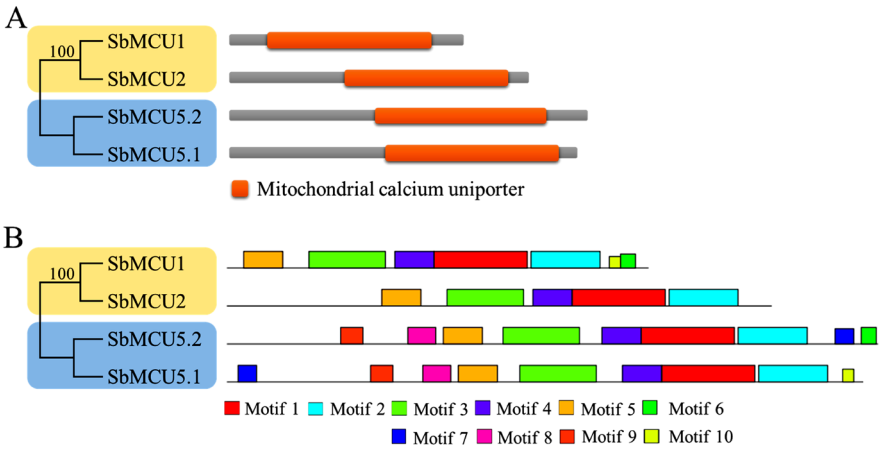
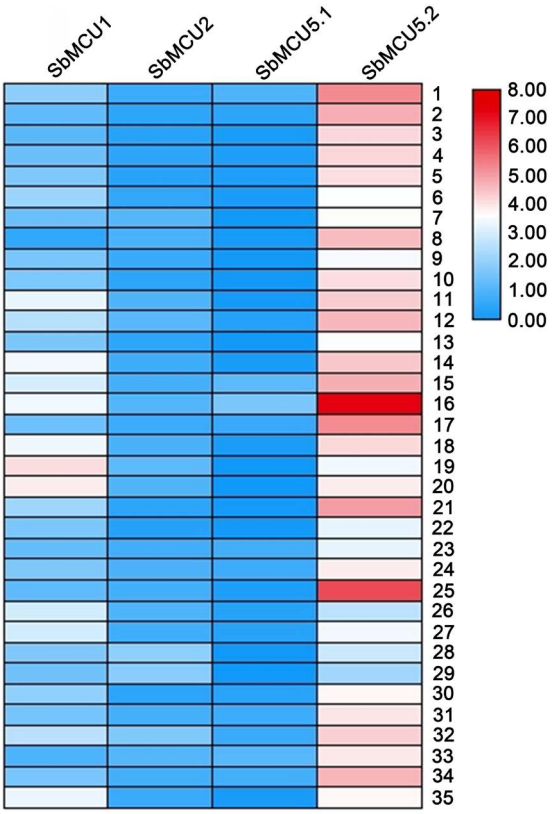


Figure 5. Characterization of conserved domains within SbMCUs proteins. (A) Conserved domains within SbMCUs proteins; (B) Conserved motif within SbMCUs proteins

图 5. SbMCUs 家族蛋白保守结构域分析。(A) SbMCUs 家族蛋白保守功能结构域分析；(B) MEME 分析 SbMCUs 家族保守 Motif

3.7. SbMCUs 家族组织表达模式分析

为了进一步了解 SbMCUs 基因家族，利用 Phytozome 基因表达数据，分析了 SbMCUs 基因在不同组织的表达(图 6)。结果表明，SbMCU5.2 在不同组织器官和生长发育阶段的表达量较 SbMCUs 基因家族的其他成员均高，在开花期下方处于生长状态的叶片和花蕾形成期处于生长状态的叶鞘表达量最高；SbMCU2 和 SbMCU5.1 在不同组织器官和生长发育阶段的表达量在 SbMCUs 基因家族中最低；SbMCUs 基因家族在花期的基因表达量较其他时期高。



Note: 1: Surface root in immature stage; 2: Bottom root in immature stage; 3: Surface root in vegetative growth stage; 4: Bottom root in vegetative growth stage; 5: Upper rolled leaves in vegetative growth stage; 6: Upper leaves in immature stage; 7: Growing leaf sheath in immature stage; 8: Below rolled leaves in vegetative growth stage; 9: Below leaves in immature stage; 10: Central rolled leaves in vegetative growth stage; 11: 2 mm stem in immature stage; 12: 1 cm stem in vegetative growth stage; 13: Bottom root in flowering stage; 14: Leaf flag 1internode in flowering stage; 15: Upper growing leaves in flowering stage; 16: Below growing leaves in flowering stage; 17: growing leaf sheath in flouring stage; 18: Stem mid internode in flowering stage; 19: Upper panicle in flowering stage; 20: Below panicle in flowering stage; 21: Middle root in floral initiation stage; 22: Bottom root in floral initiation stage; 23: Below growing leaves in floral initiation stage; 24: Upper growing leaves in floral initiation stage; 25: Growing leaf sheath in floral initiation stage; 26: Upper growing internode in floral initiation stage; 27: Growing leaf sheath in floral initiation stage; 28: Panicle in floral initiation stage; 29: Peduncle in floral initiation stage; 30: Bottom root in grain maturity stage; 31: Leaf flag 1 internode ingrain maturity stage; 32: Below growing leaves in grain maturity stage; 33: Growing leaf sheath in grain maturity; 34: Stem mid internode in grain maturity stage; 35: Mature internode in floral initiation

注：1：幼嫩期表层根系；2：幼年嫩期底层根系；3：营养生长期表层根系；4：营养生长期底层根系；5：营养生长期上方卷叶；6：幼嫩期上方叶片；7：幼嫩期处于生长状态的叶鞘;8：营养生长期下方卷叶；9：幼嫩期下方叶片；10：营养生长期中部卷叶；11：幼嫩期 2 mm 的茎；12：营养生长期 1 cm 的茎；13：开花期底层根系；14：开花期旗叶 1 节间;15：开花期上方处于生长状态的叶片；16：开花期下方处于生长状态的叶片；17：开花期处于生长状态的叶鞘；18：开花期茎中部节间；19：开花期上方圆锥花序；20：开花期下方圆锥花序；21：花蕾形成期中层根系；22：花蕾形成期底层根系；23：花蕾形成期下方处于生长状态的叶片；24：花蕾形成期上方处于生长状态的叶片;25：花蕾形成期处于生长状态的叶鞘；26：花蕾形成期上方处于生长状态的节间；27：花蕾形成期处于生长状态的节间；28：花蕾形成期圆锥花序；29：花蕾形成期花梗；30：谷物成熟期底层根系。31：谷物成熟期旗叶 1 节间；32：谷物成熟期下方处于生长状态的叶片；33：谷物成熟期处于生长状态的叶鞘；34：谷物成熟期茎中部节间；35：花蕾形成期成熟节间

Figure 6. Heat map of tissue specific expression in SbMCUs
图 6. SbMCU 家族组织表达分析

3.8. 逆境胁迫应答下 SbMCUs 基因的表达量分析

为了筛选响应逆境胁迫的 SbMCUs 基因，利用下载的转录组测序数据分析了 SbMCUs 家族在 ABA、PEG 和干旱胁迫下的表达(图 7)。如图 7(A)所示，Subgroup II 中 SbMCU5.1 对 ABA 和 PEG (渗透胁迫)在根和幼苗均有明显响应，在根中均显著下调(Log_2 变化倍数>2)，而在 ABA 处理后，SbMCU5.1 在幼苗中显著上调(Log_2 变化倍数>3)；Subgroup I 中 2 个基因在 ABA 和 PEG 处理下响应均不明显($-0.6 < Log_2$ 变化倍数<0.4)。如图 7(B)所示，两种不同基因型(Sensitive genotype, SG 和 Tolerant genotype, TG)高粱在 42 d 时叶片的表达谱中发现，SbMCU5.1 对干旱均有明显响应，其中 SG 的表达量上调最高(Log_2 变化倍数=5.41)；Subgroup I 中 2 个基因在不同基因型高粱经干旱处理后响应模式不同，其中 SG 均呈下调表达，而 TG 均呈上调表达。

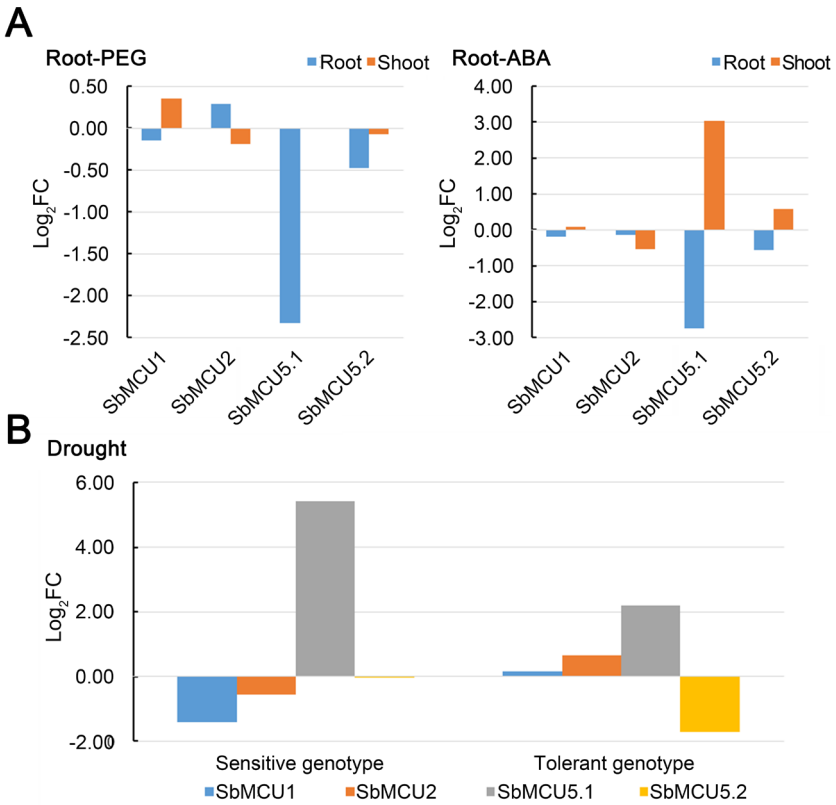


Figure 7. Expression profiles of the stress responsiveSbMCUsgenes. (A) RNA-Seq of Sorghum bicolor 9d seedlings in response to osmotic stress and abscisic acid; (B) Drought stress tolerance strategies revealed by RNA-Seq in two sorghum genotypes contrasting for WUE

图 7. 逆境胁迫应答的 SbMCUs 家族基因表达模式分析。(A) 高粱幼苗(9d)对渗透胁迫和脱落酸的影响；(B) 两个不同基因型高粱对水分利用效率的比较研究

3.9. SbMCUs 基因启动子顺式元件

为进一步解析 SbMCUs 家族成员对 ABA 和干旱胁迫的应答，我们对上 SbMCUs 家族成员基因的启动子区域进行元件分析(表 3)。通过 New PLACE 在线预测所检测到的顺式元件中有 3 个响应元件，为 ABRE、CBF 和 DRE。其中，干旱和 ABA 应答的 ABRE 元件存在于 SbMCUs 家族的每一个成员中；SbMCU1 中含有 ABRE 和 DRE 元件的数量最多，均为 3 个，但是结合转录组数据分析发现，SbMCU1 对 ABA 和干旱的响应并不明显。

Table 3. Detailed information of stress related motif in the SbMCUs promoter
表 3. SbMCUs 基因启动子胁迫相关的元件分析

元件	核心序列	功能预测	基因			
			SbMCU1	SbMCU2	SbMCU5.1	SbMCU5.2
ABRE	ACGTGTC	干旱、ABA 应答	3	2	1	1
CBF	RYCGAC	干旱应答	1			
DRE	RCCGAC	干旱、ABA、低温应答	3			

4. 结论与讨论

随着杂粮关注度的增加，从高粱全基因组测序完成后，众多科研工作者从基因家族的角度对其进行了系统研究，已经鉴定出很多基因家族。MCU 调节 Ca^{2+}信号转导，并参与胞质的很多生理活动，本研究鉴定分析 SbMCUs 家族有利于抗性基因的筛选，为进一步研究胞质内部活动提供参考依据，也为今后选育优良品种提供有力证据。

本研究应用生物信息学方法，筛选并鉴定出 4 个 SbMCU 基因，其与拟南芥和水稻 MCU 家族系统进化树中发现，水稻和高粱具有更紧密的系统发育关系，验证了水稻(单子叶植物)比拟南芥(双子叶物种)更与高粱(单子叶植物)接近的观点。高粱 MCU 基因数目较拟南芥和水稻是最少的，且存在的 1 对复制基因 Ka/Ks < 0.5，说明高粱 MCU 家族基因数目并未通过复制现象得到扩充，同时说明其家族基因的结构较保守。从 SbMCUs 基因结构和蛋白结构上同时也发现，SbMCUs 基因的高度保守性。在基因结构上，SbMCUs 家族均含有 1 个内含子和两个外显子；在蛋白结构上，SbMCUs 家族只含有一个功能结构域(Mitochondrial Calcium Uniporter)，在其功能结构域上存在 2 个跨膜结构域(除 SbMCU5.1 不含有跨膜结构域外)。

在研究 SbMCUs 基因家族功能时，我们发现 SbMCU5.2 在不同组织器官和生长发育阶段的表达量最高；SbMCU5.1 对 ABA 和渗透胁迫均有明显响应，而 SbMCU5.1 中含有其响应的作用元件并不多。以上只是对 SbMCUs 基因家族做出的初步鉴定和一些表达分析，并未对相应基因做进一步功能验证。因此，本研究会对已有结果进一步研究并加以验证，同时进一步研究 SbMCUs 基因家族在恶劣环境中的作用机理。

参考文献

[1] Clapham, D.E. (2007) Calcium Signaling. *Cell*, **131**, 1047-1058. https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.11.028

[2] Deluca, H.F. and Engstrom. G.W. (1961) Calcium Uptake by Rat Kidney Mitochondria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **47**, 1744-1750. https://doi.org/10.1073/pnas.47.11.1744

[3] Vasington, F.D. and Murphy, J.V. (1962) Ca Ion Uptake by Rat Kidney Mitochondria and Its Dependence on Respiration and Phosphorylation. *The Journal of Biological Chemistry*, **237**, 2670-2677.

[4] Drago, I., Pizzo, P. and Pozzan T. (2011) After Half a Century Mitochondrial Calcium in- and Efflux Machineries Reveal Themselves. *The EMBO Journal*, **30**, 4119-4125. https://doi.org/10.1038/emboj.2011.337

[5] Baughman, J.M., Perocchi, F., Girgis, H.S., *et al*. (2011) Integrative Genomics Identifies MCU as an Essential Component of the Mitochondrial Calcium Uniporter. *Nature*, **476**, 341-345. https://doi.org/10.1038/emboj.2011.337

[6] De Stefarni, D., Raffaello, A., Teardo, E., *et al*. (2011) A Forty-Kilodalton Protein of the Inner Membrane Is the Mitochondrial Calcium Uniporter. *Nature*, **476**, 336-340. https://doi.org/10.1038/nature10230

[7] Perocchi, F., Gohil, V.M., Girgis, H.S., *et al*. (2010) MICU1 Encodes a Mitochondrial EF Hand Protein Required for Ca2+ Uptake. *Nature*, **467**, 291-296. https://doi.org/10.1038/nature09358

[8] Stael, S., Wurzinger, B., Mair, A., *et al*. (2012) Plant Organellar Calcium Signalling: An Emerging Field. J Exp Bot, **63**, 1525-1542. https://doi.org/10.1093/jxb/err394

[9] Teardo, E., Carraretto, L., Moscatiello, R., *et al*. (2019) A Chloroplast-Localized Mitochondrial Calcium Uniporter Transduces Osmotic Stress in Arabidopsis. *Nature Plants*, **5**, 581-588. https://doi.org/10.1038/s41477-019-0434-8

[10] Wang, L., Wang, L., Chen, Q., *et al*. (2018) Identification and Comparative Analysis of the MCU Gene Family in Pear

and Its Functions during Fruit Ripening. *Journal of Plant Physiology*, **229**, 53-62. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.07.001

[11] 姚新转, 刘洋, 赵德刚. 高粱 Na+转运蛋白基因 SbSKC1 的克隆及其在烟草中的抗盐功能鉴定[J]. 作物学报, 2017, 43(2): 190-200.

[12] Dugas, D.V., Monaco, M.K., Olsen, A., *et al*. (2011) Functional Annotation of the Transcriptome of Sorghum Bicolor in Response to Osmotic Stress and Abscisic Acid. *BMC Genomics*, **12**, 514. https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-514

[13] Fracasso, A., Trindade, L.M. and Amaducci, S. (2016) Drought Stress Tolerance Strategies Revealed by RNA-Seq in Two Sorghum Genotypes with Contrasting WUE. *BMC Plant Biology*, **16**, 115. https://doi.org/10.1186/s12870-016-0800-x

[14] Teardo, E., Carraretto, L., Wagner, S., *et al.* (2017) Physiological Characterization of a Plant Mitochondrial Calcium Uniporter in Vitro and in Vivo. *Plant Physiology*, **173**, 1355-1370. https://doi.org/10.1104/pp.16.01359