

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202108006

石杨, 汪梦婷, 靳雨璠, 等. 水稻 *OsMBF1c* 基因的克隆及表达分析 [J]. 广西植物, 2022, 42(11): 1822–1829.

SHI Y, WANG MT, JIN YF, et al. Cloning and expression analysis of *OsMBF1c* gene in rice [J]. *Guihaia*, 2022, 42(11): 1822–1829.



水稻 *OsMBF1c* 基因的克隆及表达分析

石杨¹, 汪梦婷¹, 靳雨璠¹, 于月¹, 张旭¹, 李家豪¹,
姜南¹, 李斌¹, 陈稷², 黄进^{1*}

(1. 成都理工大学 生态环境学院, 成都 610059; 2. 四川农业大学 农学院, 成都 611130)

摘要: 多蛋白桥联因子 1 (multi protein bridging factor 1, MBF1) 在植物应对逆境胁迫中起着重要的作用, 而对于水稻中 MBF1 是否参与重金属胁迫响应机制目前尚未见相关报道。为了揭示水稻 MBF1 家族与重金属胁迫的相关性及其潜在作用机制, 该研究利用 PCR 技术克隆水稻 *OsMBF1c* 基因的全长编码序列, 通过生物信息学对基因功能进行分析和预测, 并通过实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 分析其在镉 (Cd) 胁迫下的表达特征。结果表明: (1) *OsMBF1c* 的全长编码序列为 468 bp, 共编码 155 个氨基酸, 相对分子量为 16.154 kDa。(2) *OsMBF1c* 与大麦 *TdMBF1a.1* 亲缘关系最近, 具有光、厌氧等环境因子诱导相关的顺式调节元件。(3) 重金属 Cd 可诱导 *OsMBF1c* 表达且在时间上和组织中的表达水平具有特异性, 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 处理 1 h 后, 地上部分 *OsMBF1c* 表达量明显上调, 为对照组的 7 倍; 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 胁迫处理 6 h 后, 根部 *OsMBF1c* 表达量上调为对照组的 3 倍。该研究结果进一步完善了非生物胁迫下 MBF1 家族的生物学功能研究。

关键词: 水稻, *OsMBF1c*, 基因克隆, 表达分析, 镉

中图分类号: Q943 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)11-1822-08

Cloning and expression analysis of *OsMBF1c* gene in rice

SHI Yang¹, WANG Mengting¹, JIN Yufan¹, YU Yue¹, ZHANG Xu¹, LI Jiahao¹,
JIANG Nan¹, LI Bin¹, CHEN Ji², HUANG Jin^{1*}

(1. College of Ecology and Environment, Chengdu University of Technology, Chengdu 610059, China;

2. College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: Multi protein bridging factor 1 (MBF1) plays an important role in plant stress resistance. However, there is no report about the specific functional mechanism of MBF1 in rice under heavy metal stress. The purpose of this study was to shed light on the correlation and potential mechanism between MBF1 family and heavy metal stress in rice. In this article, the full length coding sequence of *OsMBF1c* was cloned by PCR, the function of *OsMBF1c* was predicted by bioinformatics analysis, and the expression characteristics of *OsMBF1c* under Cd treatment was analyzed by RT-qPCR. The results were as follows: (1) The full length of *OsMBF1c* was 468 bp, which encoded 155 amino acids with

收稿日期: 2021-11-27

基金项目: 国家自然科学基金(31870383) [Supported by National Natural Science Foundation of China (31870383)].

第一作者: 石杨(1997-), 硕士, 研究方向为水稻重金属响应基因的功能分析, (E-mail) 738565564@qq.com。

*通信作者: 黄进, 博士, 研究员, 主要从事水稻吸收、转运重金属相关基因的调控机制研究, (E-mail) huangjin18@cdut.edu.cn。

the relative molecular weight of 16.154 kDa. (2) *OsMBF1c* was closely related to *TdMBF1a.1*, and cis-acting elements analysis showed that *OsMBF1c* was regulated by environmental factors such as light and anaerobic. (3) Gene expression analysis indicated that *OsMBF1c* was induced by Cd, and the expression level of *OsMBF1c* varied with different time or different tissues. After treated with $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd, the expression level of *OsMBF1c* in shoots at 1 h was remarkably up-regulated, which was seven times that of the control group, and the expression level in roots at 6 h was up-regulated to three times that of the control group. In conclusion, this study further refines the biological functions of MBF1 family under abiotic stress.

Key words: rice, *OsMBF1c*, gene cloning, expression analysis, cadmium

近年来,随着人类工业化进程的加快,干旱、盐碱化和重金属污染问题对农作物的威胁日趋严重,其中重金属污染问题尤为突出。镉(Cd)作为一种重金属,因其具有高毒性,即使在土壤中以较低浓度存在,也会对农作物产生极强的毒性,进而影响农作物的生长发育(Toppi & Gabbrielli, 1999; 金枫等, 2010)。水稻(*Oryza sativa*)作为我国重要的粮食作物,其生长发育受到土壤中 Cd 的严重危害(Zheng et al., 2021)。因此,如何改善重金属对水稻生长发育的影响并解决籽粒中的重金属积累问题,对未来培育耐 Cd 水稻品种以及保障粮食生产安全均具有重要意义。目前,水稻应对重金属胁迫的转录调控机制的研究较为广泛,相关转录因子、转录调节因子等因对抗胁迫功能基因的表达起着重要调节作用,而一直成为研究热点。多蛋白桥联因子 1(multi protein bridging factor 1, MBF1)是植物处于生物及非生物胁迫应答过程中起重要作用的转录调节因子之一(Wang et al., 2017)。MBF1 蛋白主要由 N 端“MBF1”结构域和 C 端“ α -螺旋- β -转角- α -螺旋”结构域组成,可通过桥联转录激活因子和 TBP(TATA-Binding Protein)调控多种信号转导途径并激活多种防御因子,最终提高植物在逆境胁迫下的耐受性(Millership et al., 2004; Jaimes-Miranda & Chávez Montes, 2020)。拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、小麦(*Triticum aestivum*)、菊花(*Chrysanthemum morifolium*)中 MBF1 基因家族可参与调控植物应对热、氧化和干旱等胁迫反应(Suzuki et al., 2005; Pamela et al., 2010; Zhao et al., 2019)。然而,MBF1 是否参与植物应对重金属胁迫通路,以及是否可能缓解植物因重金属而引起氧化损伤等的相关研究却少见报道。此外,对 MBF1 的研究也仅仅局限于拟南芥、小麦等物种,在水稻中潜在的功能和作用机制的研究则较少,而水稻作为我国重要的粮食作物之一,研究其抗逆机理显得尤为重要。

本研究对水稻中的 MBF1 基因家族进行了生物信息学分析,并以水稻为材料,利用 PCR 方法克隆得到了 *OsMBF1c*(*LOC_Os06g39240*) 基因的全长编码区(coding sequence, CDS)。在此基础上,采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)方法对 Cd 处理下不同水稻组织中 *OsMBF1c* 的相对表达量进行分析。旨在探究以下问题:(1)水稻 MBF1 蛋白家族亲缘进化关系、理化性质以及结构特征;(2)水稻 MBF1 基因家族成员在 Cd 胁迫下的表达变化情况;(3)水稻 MBF1 在缓解 Cd 危害过程中的潜在功能。本研究结果将为耐镉水稻品种的培育提供潜在的基因资源,同时为进一步解析该基因在水稻中应对重金属胁迫的调控机制奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材料

水稻种子于 4 °C 保存。选健康种子放入适量无菌水中,30 °C 催芽 48 h。将发芽种子置于 1/2 MS 液体培养基中,30 °C 温室进行光照 16 h/黑暗 8 h 交替培养,5 d 后选取同一生长阶段的幼苗进行 CdCl₂($100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)胁迫处理,经时间梯度(1、6、12 h)处理后采集地上部分和根部,并将其立即用液氮进行速冻,置于-80 °C 冰箱保存备用。

1.2 *OsMBF1c* 基因克隆

1.2.1 总 RNA 提取和 cDNA 第一链合成 将 CdCl₂ 处理的水稻组织参照 Aidlab 公司的 EASYspin Plus 植物 RNA 快速提取试剂盒的说明书进行总 RNA 的提取。提取成功后,取 1 000 ng RNA,参照 ThermoFisher 公司 Thermo Scientific RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit 反转录试剂盒说明书进行反转录合成 cDNA 第一链。

1.2.2 *OsMBF1c* 基因的克隆和测序 根据水稻 *OsMBF1c* 基因的 CDS 序列设计引物 *OsMBF1c*-F/

OsMBF1c-R(表1)。以水稻 cDNA 为模板,使用擎科生物科技有限公司的金牌 Mix 酶对 *OsMBF1c* 基因的 CDS 序列进行 PCR 扩增。利用胶回收试剂盒对 PCR 产物进行胶回收后,利用 Vazyme 公司的 ClonExpress II One Step Cloning Kit 试剂盒连入 *pGADT7* 载体,并转化至大肠杆菌 *DH5 α* 菌株。挑取阳性克隆培养后,使用天根生化科技公司的质粒小提试剂盒提取重组质粒并进行酶切验证,送往擎科生物科技有限公司(成都)进行测序。

表 1 基因克隆和表达检测引物
Table 1 Primers used for gene cloning and expression analysis

引物 Primer	引物序列 (5'→3') Primer sequence (5'→3')	长度 Length (bp)
<i>OsMBF1c</i> -F	CATACAATCAACTCCAAGCTTAT GCCGACGGGGAGGTTGACCG	43
<i>OsMBF1c</i> -R	TGGCGAAGAAGTCCAAAGCTTT CACTTGGCGCCGGCGGGCGCG	43
<i>OsMBF1c</i> -qF	ACATCACGCAGACTGGGAG	20
<i>OsMBF1c</i> -qR	TCCGTCGACTCGTCCAGCTT	20
<i>OsMBF1a</i> -qF	GCCGCCAAGAAGGATGAGA	19
<i>OsMBF1a</i> -qR	CCTTGTTGTTCCAGGCGTT	20
<i>Ubiquitin</i> -F	ATCACGCTGGAGGTGGAGT	19
<i>Ubiquitin</i> -R	AGGCCTTCTGGTTGTAGACG	20

1.3 生物信息学分析

从 EnsemblPlants 数据库 (<http://plants.ensembl.org/info/data/ftp/index.html>) 获得水稻、大麦 (*Hordeum vulgare*)、二粒小麦 (*Triticum dicocoides*)、高粱 (*Sorghum bicolor*)、玉米 (*Zea mays*) 的整个基因组以及 gff3 注释文件,使用 TBtools 软件将整个基因组序列翻译为蛋白序列。利用 *OsMBF1c* 的氨基酸序列在 Pfam (<http://pfam.xfam.org/>) 网站中对其编码蛋白的结构域进行分析,目的基因编码蛋白中含有与非生物胁迫相关的 MBF1 结构域,先通过 Pfam 网站得到其 HMM 结构模型,再通过 TBtools 软件的 Simple HMM Search 功能对水稻、二粒小麦、大麦、高粱和玉米的蛋白序列进行分析,筛选确定所选物种中的 MBF1 基因家族成员。

利用在线 ProtParam 工具 (<https://web.expasy.org/protscale/>) 对 *OsMBF1c* 的基本理化性质进行预测和分析;利用 SCOPMA 工具 (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl? page =

NPSA/npsa_sopma.html) 对蛋白质二级结构进行预测;利用水稻 *OsMBF1c* 基因编号在 Rice Genome Annotation Project 网站 (<http://rice.plantbiology.msu.edu/index.shtml>) 获得启动子序列;通过 The PlantCARE 网站 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 分析启动子顺式作用元件,采用 TBtools 软件制图。

利用在线 Multalin 软件 (<http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/>) 对其编码的氨基酸序列进行比对;利用 MEGA 7.0 软件中 Neighbor-joining 法构建系统进化树;通过 The MEME Suite 网站 (<https://meme-suite.org/meme/index.html>) 对其同源蛋白进行 motif 分析,利用 TBtools 中的 Visualize Motif Pattern 功能对多序列的 motif 元件进行分析与美化。用 STRING 数据库 (<https://string-db.org/cgi/input.pl>),对水稻 *OsMBF1c* 蛋白的相互作用进行预测。

1.4 *OsMBF1c* 基因表达分析

以稀释 20 倍的 Cd 处理水稻的 cDNA 为模板。采用德国耶拿分析仪器股份公司 (Analytikjena) qTOWER³ G 实时荧光定量基因扩增仪检测 *OsMBF1c*、*OsMBF1a* 基因的表达量。反应试剂采用 Aidlab 的 2 × Sybr Green qPCR Mix。扩增体系为 cDNA 3 μ L、SYBR Green 5 μ L、引物 (2.5 μ mol · L⁻¹) 各 1 μ L。反应程序:95 $^{\circ}$ C 预变性 2 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 55 $^{\circ}$ C 复性 15 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 20 s, 72 $^{\circ}$ C 后延伸 3 min, 40 个循环。以水稻 *Ubiquitin* 作为内参基因。每个样品均设置 3 次重复,以 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 方法分析定量数据。

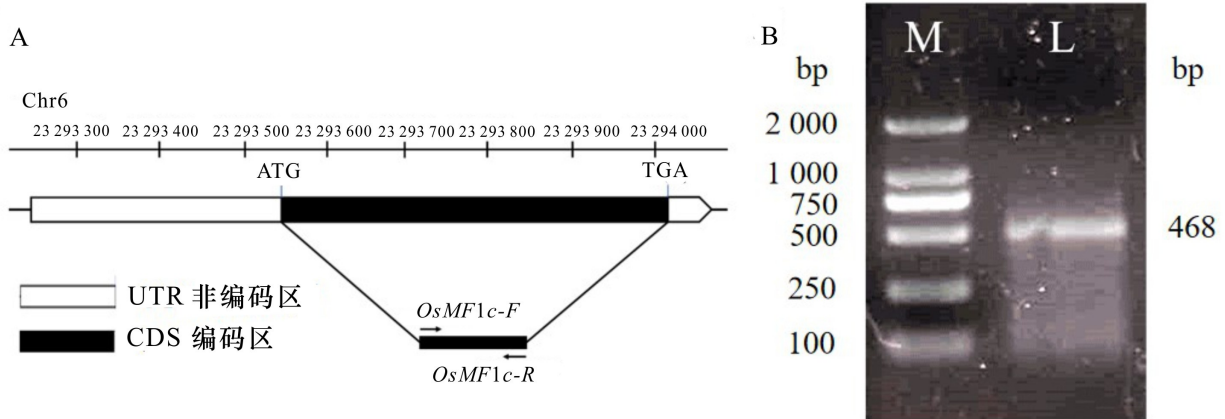
1.5 数据统计分析

使用 Graphpad 软件对不同处理 Cd 浓度、不同处理时间、不同组织的数据进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 水稻 *OsMBF1c* 基因结构分析及 CDS 全长克隆

利用 Rice Genome Annotation Project (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>) 查询得知,基因 *OsMBF1c* 位于水稻全基因组的第六号染色体上,*OsMBF1c* 基因 CDS 长度为 468 bp(图 1:A)。基于水稻 cDNA 文库,使用 *OsMBF1c*-F/*OsMBF1c*-R 引物扩增 *OsMBF1c* 基因 CDS 片段,获得大小约为 468 bp 的目的基因,其共编码 155 个氨基酸。用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测获得的 PCR 产物,条带大小(图 1:B) 与基因组数据库结果一致。



A. *OsMBF1c* 基因结构分析; B. *OsMBF1c* CDS 扩增产物; M. DL2 000 标记; L. *OsMBF1c* 基因 CDS 扩增产物。

A. Structure analysis of *OsMBF1c* gene; B. *OsMBF1c* CDS amplification product; M. DL2 000 Marker; L. CDS amplification product of *OsMBF1c* gene.

图 1 *OsMBF1c* 基因结构分析及 CDS 全长扩增产物

Fig. 1 Gene structure analysis of *OsMBF1c* and amplification product of *OsMBF1c* CDS

2.2 水稻 *OsMBF1c* 基因的生物信息学分析

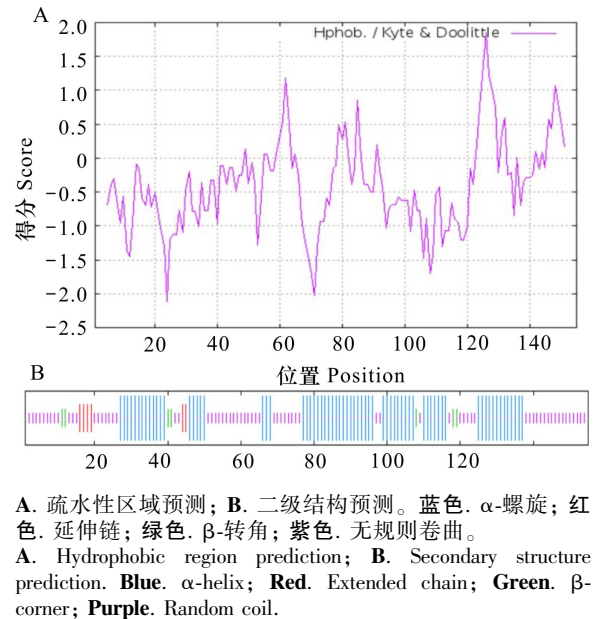
使用 ProtParam 工具预测分析 *OsMBF1c* 蛋白的基本理化性质。结果显示, *OsMBF1c* 蛋白含有 155 个氨基酸, 分子式为 $C_{698}H_{1184}N_{224}O_{209}S_3$, 分子量为 16.154 kDa, 理论等电点 (PI) 为 10.67, 表明此蛋白质呈碱性; 蛋白质不稳定性指数 37.59, 表现为稳定蛋白; 进一步在 ExPasy 网站上利用 ProtScale 软件对 *OsMBF1c* 蛋白亲/疏水性进行分析, 结果显示, *OsMBF1c* 蛋白多肽链的第 24 位分值最低, 为 -2.111; 第 126 位分值最高, 为 1.856, 同时 *OsMBF1c* 亲水区域大于疏水区域, 属于亲水性蛋白 (图 2: A); 二级结构预测发现 (图 2: B), 在 *OsMBF1c* 氨基酸组成中, 以无规则卷曲为主, 占 46.45%, 其次为 α -螺旋, 占 45.16%, β 转角占比最少, 为 4.52%。

2.3 水稻 *OsMBF1c* 基因启动子顺式作用元件分析

通过 TBtools 对 *OsMBF1c* 顺式作用元件进行可视化分析, 结果如图 3 所示。 *OsMBF1c* 的启动子序列中含有参与调节厌氧感应的顺式作用元件 ARE、GC-motif、光响应元件 G-box、乙烯响应元件 ERE 等。这些顺式作用元件可能在水稻应对不同非生物胁迫响应机制中对启动子的调控发挥重要作用, 其启动子中基序的存在说明该基因有可能参与不同类型非生物胁迫的应对机制。

2.4 水稻 *OsMBF1c* 多重序列比对和同源性分析

将 *OsMBF1c* 氨基酸序列与水稻、大麦、小麦、高粱和玉米等 5 种禾本科常见物种中同源基因的氨基酸序列进行同源性分析 (图 4)。 结果显示



A. 疏水性区域预测; B. 二级结构预测。蓝色. α -螺旋; 红色. 延伸链; 绿色. β -转角; 紫色. 无规则卷曲。
A. Hydrophobic region prediction; B. Secondary structure prediction. Blue. α -helix; Red. Extended chain; Green. β -corner; Purple. Random coil.

图 2 *OsMBF1c* 蛋白的生物信息学分析

Fig. 2 Bioinformatics analysis of *OsMBF1c* protein

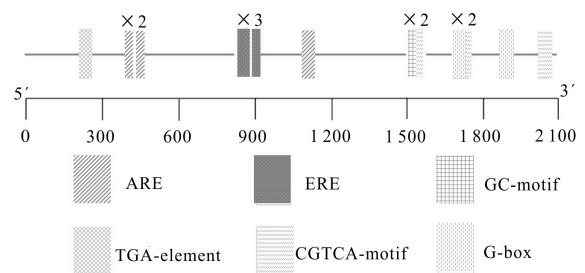
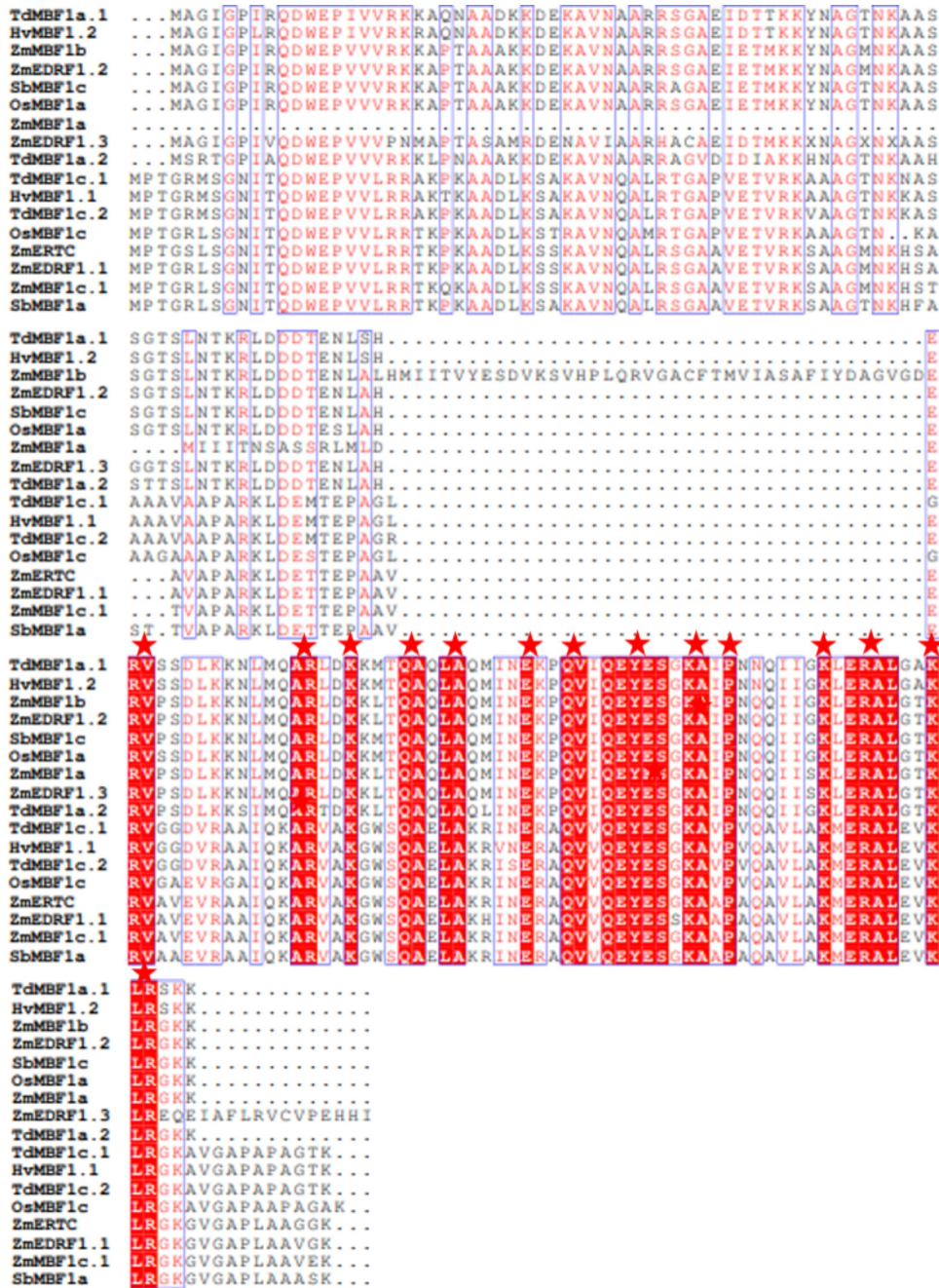


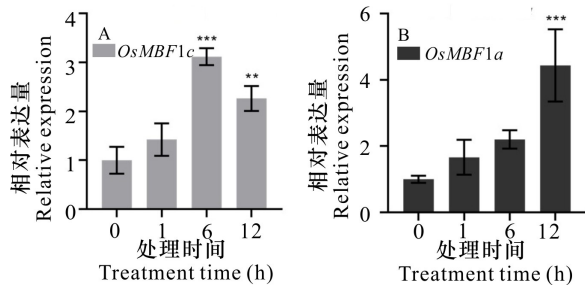
图 3 *OsMBF1c* 蛋白的顺式作用元件分析

Fig. 3 Cis-acting element analysis of *OsMBF1c* protein



TdMBF1a.1. 二粒小麦 (GenBank 登录号 XP_037478698.1); **TdMBF1a.2.** 二粒小麦 (GenBank 登录号 XP_037404793.1); **TdMBF1c.1.** 二粒小麦 (GenBank 登录号 XP_037463264.1); **TdMBF1c.2.** 二粒小麦 (GenBank 登录号 XP_037462899.1); **HvMBF1.2.** 大麦 (GenBank 登录号 KAE8794675.1); **HvMBF1.1.** 大麦 (GenBank 登录号 KAE8808916.1); **OsMBF1a.** 水稻 (GenBank 登录号 XP_015650143.1); **OsMBF1c.** 水稻 (GenBank 登录号 XP_015641831.1); **SbMBF1a.** 高粱 (GenBank 登录号 XP_002445392.1); **SbMBF1c.** 高粱 (GenBank 登录号 XP_002438624.1); **ZmMBF1a.** 玉米 (GenBank 登录号 ONM04923.1); **ZmMBF1b.** 玉米 (GenBank 登录号 PWZ27846.1); **ZmEDRF1.1.** 玉米 (GenBank 登录号 ACC42768.1); **ZmEDRF1.2.** 玉米 (GenBank 登录号 ACC33346.1); **ZmEDRF1.3.** 玉米 (GenBank 登录号 ACC29466.1); **ZmMBF1c.1.** 玉米 (GenBank 登录号 PWZ06559.1); **ZmMBF1c.2.** 玉米 (GenBank 登录号 PWZ06222.1); **Black Star.** 保守位点。
TdMBF1a.1. *Triticum dicocoides* (XP_037478698.1); **TdMBF1a.2.** *Triticum dicocoides* (XP_037404793.1); **TdMBF1c.1.** *Triticum dicocoides* (XP_037463264.1); **TdMBF1c.2.** *Triticum dicocoides* (XP_037462899.1); **HvMBF1.2.** *Hordeum vulgare* (KAE8794675.1); **HvMBF1.1.** *Hordeum vulgare* (KAE8808916.1); **OsMBF1a.** *Oryza sativa* (XP_015650143.1); **OsMBF1c.** *Oryza sativa* (XP_015641831.1); **SbMBF1a.** *Sorghum bicolor* (XP_002445392.1); **SbMBF1c.** *Sorghum bicolor* (XP_002438624.1); **ZmMBF1a.** *Zea mays* (ONM04923.1); **ZmMBF1b.** *Zea mays* (PWZ27846.1); **ZmEDRF1.1.** *Zea mays* (ACC42768.1); **ZmEDRF1.2.** *Zea mays* (ACC33346.1); **ZmEDRF1.3.** *Zea mays* (ACC29466.1); **ZmMBF1c.** *Zea mays* (PWZ06559.1); **ZmMBF1c.2.** *Zea mays* (PWZ06222.1). **Black Star.** Conservative site.

图 4 OsMBF1c 氨基酸序列及其他植物同源序列间多重比较
 Fig. 4 Multiple comparisons between OsMBF1c amino acid sequence and other plant homologous sequences



A. 水稻 *OsMBF1c* 基因的表达分析。B. 水稻 *OsMBF1a* 基因的表达分析。

A. *OsMBF1c* gene expression analysis of rice; B. *OsMBF1a* gene expression analysis of rice.

图 8 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 胁迫水稻根部中 *OsMBF1c*、*OsMBF1a* 基因的相对表达量变化

Fig. 8 Relative gene expression changes of *OsMBF1c* and *OsMBF1a* from the root of rice treated under $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd stress

相关性,其中 HSFA6A、HSFA6B 在植物应对高温、干旱和重金属等多种非生物胁迫过程中起着重要作用。通过预测与 *OsMBF1c* 蛋白互作的靶蛋白,将更加有助于深入探究水稻 *OsMBF1c* 蛋白的功能和调控机理。

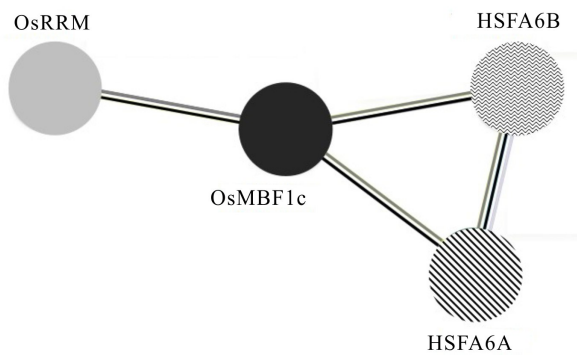


图 9 水稻中 *OsMBF1c* 蛋白相互作用网络

Fig. 9 Protein interaction network of *OsMBF1c* in rice

3 讨论与结论

水稻在生长发育过程中可能会受到盐、低温、干旱、重金属等各种逆境胁迫,其中重金属所产生的危害严重制约着水稻产量和品质。水稻在长期进化过程中,逐渐形成了一套复杂的网络调控机制,以应对重金属逆境胁迫(董蔚等, 2018)。MBF1 蛋白作为转录共激活因子,参与植物中各种

发育过程和非生物胁迫反应(Jaimes-Miranda & Chávez Montes, 2020)。植物中 MBF1 研究较多的是模式植物拟南芥,在拟南芥中具有 3 个 *MBF1* 基因,即 *AtMBF1a*、*AtMBF1b* 和 *AtMBF1c*,其中 *AtMBF1a*、*AtMBF1c* 可增强拟南芥对热、渗透和盐等非生物胁迫的耐受性(Suzuki et al., 2005; Kim et al., 2007)。Zhang 等(2019)研究表明,水稻中存在 2 个 *MBF1* 家族基因,即 *OsMBF1a*、*OsMBF1c*,这与该文利用生物信息技术筛选出的结果一致,而对该家族基因在重金属胁迫下的功能研究却较少。*OsMBF1c* 的基因结构中含有 1 个外显子,与拟南芥 *AtMBF1c* 相同。而 *OsMBF1c* 的同源基因 *OsMBF1a* 包含 4 个外显子,也与拟南芥 *AtMBF1a*、*AtMBF1b* 的外显子数相同(Tsuda & Yamazaki, 2004)。本研究结果进一步表明 MBF1 在不同植物物种间进化具有保守性,但在同一物种内的 *MBF1a/b* 与 *MBF1c* 却有较大差异。该现象表明植物在进化压力的选择下,就 *MBF1* 基因家族整体而言保持了较强的保守性,但该家族成员之间这种保守的差异却暗示着 *MBF1c* 可能与 *MBF1a/b* 分别具有不同的生物学功能。此外,对水稻 *OsMBF1c* 基因启动子顺式作用元件分析表明,该基因启动子中包括激素、低温等逆境应激元件,由此可推测水稻在重金属胁迫下,该基因可能发挥防御和应激作用。此外,系统进化树结果显示,*OsMBF1a*、*OsMBF1c* 分别与大麦 *HvMBF1.2*、*HvMBF1.1* 亲缘关系较近。目前,虽无 *HvMBF1.1*、*HvMBF1.2* 基因功能的相关报道,但在 Lai 等(2020)研究发现,大麦中的 MBF1 可能受脱落酸影响,并激活参与降低 ROS 含量的基因。由于重金属胁迫可使植物产生 ROS,因此水稻 MBF1 蛋白是否与大麦 MBF1 蛋白家族具有相似功能,通过降低水稻 ROS 含量来提高水稻重金属耐受性仍需进一步探究。

前人在研究拟南芥、大麦草(*Hordeum brevisubulatum*)等植物中 MBF1 应对非生物胁迫中的作用时发现,*MBF1* 基因的表达模式与其功能有明显的相关性。例如,Zhang 等(2020)研究发现,经 $350 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl 处理 6 h 后的大麦草中 *HbMBF1a* 基因相对表达量有明显上调,经过表达 *HbMBF1a* 基因的拟南芥也同时呈现出较强的耐盐性。本研究发现,Cd 胁迫可以显著诱导水稻各器官中 *OsMBF1c*、*OsMBF1a* 基因的上调表达,并在水

稻根部和地上部分中对胁迫的响应模式不同,该结果与 Zhang 等(2020)对盐胁迫下 *HbMBF1a* 表达情况相类似。同时,通过对比地上和地下部分的表达模式发现,在不同 Cd 处理时间表达情况呈细微差异,在地上部分组织中,*OsMBF1c* 普遍呈上调趋势,而 *OsMBF1a* 在 Cd 胁迫处理 12 h 后表达量却显著降低;在根部,*OsMBF1c* 在 6 h 表达达到最高、而 *OsMBF1a* 在 12 h 达到最高,推测 *OsMBF1c* 可能参与水稻早期地上组织应对重金属胁迫的调控机制,而 *OsMBF1a* 更多地参与水稻后期根部 Cd 解毒机制。

目前,尚未有研究证明 MBF1 蛋白通过何种分子机制对非生物胁迫做出反应,进而调节应激反应。但是,可以推测的是 MBF1 作为转录辅因子,当细胞从非应激状态到应激状态,较为灵活的 N 端结构域可与不同的胁迫应答基因结合,从而一起参与调控植物的应激反应 (Millership et al., 2004)。本研究蛋白互作预测显示,*OsMBF1c* 蛋白与 *OsRRM*、*HSFA6A* 和 *HSFA6B* 等蛋白的相关性较强,这些蛋白在植物干旱、热激和盐等胁迫方面有着重要意义 (Norbert et al., 2021)。在水稻中,*OsMBF1c* 是否可与这些蛋白共同调控重金属应激反应以及通过何种分子机制对重金属应激做出反应等问题仍需进一步探究。

参考文献:

- DONG W, WU PX, YANG N, et al., 2018. Cloning and expression analysis of WRKY transcription factor involved in salinity stress in alfalfa [J]. *Plant Physiol J*, 54(9): 1481–1489. [董蔚, 邬培祥, 杨宁, 等, 2018. 紫花苜蓿盐胁迫响应 WRKY 转录因子的克隆及表达特征分析 [J]. *植物生理学报*, 54(9): 1481–1489.]
- JIN F, WANG C, LIN HJ, et al., 2010. Heavy metal-transport proteins in plants: A review [J]. *J Appl Ecol*, 21(7): 1875–1882. [金枫, 王翠, 林海建, 等, 2010. 植物重金属转运蛋白研究进展 [J]. *应用生态学报*, 21(7): 1875–1882.]
- JAIMES-MIRANDA F, CHÁVEZ MONTES RA, 2020. The plant MBF1 protein family: a bridge between stress and transcription [J]. *J Exp Bot*, 71(6): 1782–1791.
- KIM MJ, LIM GH, KIM ES, et al., 2007. Abiotic and biotic stress tolerance in *Arabidopsis* overexpressing the *Multiprotein bridging factor 1a* (*MBF1a*) transcriptional coactivator gene [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 354(2): 440–446.
- LAI Y, ZHANG D, WANG J, et al., 2020. Integrative transcriptomic and proteomic analyses of molecular mechanism responding to salt stress during seed germination in *Hulless barley* [J]. *Int J Mol Sci*, 21(1): 359.
- MILLERSHIP JJ, WAGHELA P, CAI XM, et al., 2004. Differential expression and interaction of transcription coactivator *MBF1* with TATA-binding protein (TBP) in the apicomplexan *Cryptosporidium parvum* [J]. *Microbiol*, 150(5): 1207–1213.
- NORBERT A, ALADÁR P, LÁSZLÓ S, 2021. Diversity of plant heat shock factors: regulation, interactions, and functions [J]. *J Exp Bot*, 72(5): 1558–1575.
- PAMELA AD, VERÓNICA GA, KENICHI T, et al., 2010. The analysis of an *Arabidopsis* triple knock-down mutant reveals functions for *MBF1* genes under oxidative stress conditions [J]. *J Plant Physiol*, 167(3): 194–200.
- ZHENG SW, LIU SB, FENG JH, et al., 2021. Overexpression of a stress response membrane protein gene *OsSMP1* enhances rice tolerance to salt, cold and heavy metal stress [J]. *Environ Exp Bot*, 182: 104327.
- SUZUKI N, RIZHSKY L, LIANG HJ, et al., 2005. Enhanced tolerance to environmental stress in transgenic plants expressing the transcriptional coactivator multiprotein bridging factor 1c [J]. *Plant Physiol*, 139(3): 1313–1322.
- TOPPI LS, GABBRIELLI R, 1999. Response to cadmium in higher plants [J]. *Environ Exp Bot*, 41(2): 105–130.
- TSUDA K, YAMAZAKI KI, 2004. Structure and expression analysis of three subtypes of *Arabidopsis* *MBF1* genes [J]. *BBA-Gene Struct Express*, 1680(1): 1–10.
- WANG YY, WEI XL, HUANG JP, et al., 2017. Modification and functional adaptation of the *MBF1* gene family in the lichenized fungus *Endocarpon pusillum* under environmental stress [J]. *Sci Rep*, 7(1): 16333.
- ZHAO Q, HE L, WANG B, et al., 2019. Overexpression of a multiprotein bridging factor 1 gene *DgMBF1* improves the salinity tolerance of *Chrysanthemum* [J]. *Int J Mol Sci*, 20(10): 2453.
- ZHANG X, XU ZX, CHEN LC, et al., 2019. Comprehensive analysis of multiprotein bridging factor 1 family genes and *SIMBF1c* negatively regulate the resistance to *Botrytis cinerea* in tomato [J]. *BMC Plant Biol*, 19(1): 437.
- ZHANG L, WANG Y, ZHANG Q, et al., 2020. Overexpression of *HbMBF1a*, encoding multiprotein bridging factor 1 from the halophyte *Hordeum brevisubulatum*, confers salinity tolerance and ABA insensitivity to transgenic *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Mol Biol*, 102(1/2): 1–17.

(责任编辑 蒋巧媛)