

# 基于转录组的油茶 DHHC 型锌指蛋白基因家族的鉴定及分析

徐嘉娟, 朱亚艳, 李 芳, 许 杰, 王 港\*

(贵州省林业科学研究院, 贵州 贵阳 550005)

**摘 要:** DHHC 型锌指蛋白参与细胞内蛋白质的棕榈酰化修饰, 对植物的生长发育、器官形成、生殖发育及胁迫响应等生命活动具有重要的调控作用。基于油茶叶片转录组数据, 筛选出 23 个 DHHC 型锌指蛋白基因, 应用生物信息学方法对其蛋白理化性质、结构域、系统进化等进行了分析。结果表明, 23 个 DHHC 型锌指蛋白的序列大小为 195~725 aa, 均包含一个保守的 DHHC-CRD 结构域, 大部分 DHHC 型锌指蛋白具有 4 个跨膜区, 主要定位于细胞核和细胞膜中。系统进化分析将其分为 4 类, 与拟南芥和水稻均有不同程度的同源关系, DHHC 型锌指蛋白在不同物种间具有遗传保守性。23 个 DHHC 型锌指蛋白基因在结实量大和结实量小的单株的不同发育时期叶片中均有不同程度的表达。*CoDHHC9*、*CoDHHC13*、*CoDHHC22* 在油茶抽梢生长期的叶片中表达上调; *CoDHHC6*、*CoDHHC12*、*CoDHHC18*、*CoDHHC23* 在花芽分化时期和果实成熟时期的叶片中表达量较高, 且在结实量较小而开花较多的单株中表达上调更为明显, 这些基因可能参与油茶花芽分化及花朵发育过程; *CoDHHC5*、*CoDHHC11*、*CoDHHC15* 在不同时期的叶片中表达量均较低。研究结果为进一步对油茶 DHHC 型锌指蛋白家族基因的克隆和功能分析提供依据, 有助于进一步研究该基因家族在油茶生殖发育中的调控功能。

**关键词:** 油茶; DHHC 型锌指蛋白家族; 蛋白质酰基转移酶; 生物信息学分析

**中图分类号:** S794.4

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-7461(2022)01-0081-08

## Identification and Analysis of Zinc Finger Protein Family Genes with DHHC-Type Based on the Transcriptome Data in *Camellia oleifera*

XU Jia-juan, ZHU Ya-yan, LI Fang, XU Jie, WANG Gang\*

(Guizhou Academy of Forestry, Guiyanag 550005, Guizhou, China)

**Abstract:** DHHC (Asp-His-His-Cys)-type zinc finger proteins are involved in the palmitoylated modification of intracellular proteins and play important roles in the growth and development, organogenesis, reproductive development and stress response in plants. Based on the transcriptome sequencing results of *Camellia oleifera*, 23 DHHC-type zinc finger protein genes were identified, and the protein physicochemical properties, domains and phylogenetic evolution were analyzed by bioinformation analysis. The predicted DHHC-type zinc finger protein family members encode proteins ranged from 195 to 725 amino acid residues (aa) in *C. oleifera*, and the genes contained DHHC-CRD domains, most their proteins contained 4 putative transmembranes, which were mainly located in the nucleus and cell membrane. Phylogenetic analysis showed that the 23 genes were divided into four groups, which had different degrees of homology with *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*. DHHC-type zinc finger proteins were genetically conserved among different species. All of the genes were expressed in the leaves at different developmental stages of high and

收稿日期: 2021-01-22 修回日期: 2021-03-12

基金项目: 贵州省科技计划项目(黔科合服企[2018]4003); 油茶果皮厚度控制分子机理研究(黔科合平台人才[2019]5643); 特色林业产业项目(特林研 2020-15)。

第一作者: 徐嘉娟, 硕士, 助理研究员。研究方向: 林木遗传育种。E-mail: rrylxjj@163.com

\* 通信作者: 王 港, 博士, 副研究员。研究方向: 林木良种选育与遗传改良。E-mail: 417328697@qq.com

low seed setting plants of *C. oleifera*. *CoDHHHC9*, *CoDHHHC13* and *CoDHHHC22* were up-regulated in the leaves during shooting stage, while *CoDHHHC6*, *CoDHHHC12*, *CoDHHHC18* and *CoDHHHC23* were highly expressed in the leaves during flower bud differentiation and fruit ripening periods, and the expression of these genes were up-regulated in the single plant with small fruiting amount and more flowering, these genes may be involved in flower bud differentiation and flower development. The expression of *CoDHHHC5*, *CoDHHHC11* and *CoDHHHC15* were lower in leaves of different stages. The results provide a basis for further cloning and functional analysis of DHHC-type zinc finger protein family genes, and help to further study the regulation function of the genes in reproductive development of *C. oleifera*.

**Key words:** *Camellia oleifera*; DHHC-type zinc finger protein family; protein S-acyltransferases (PAT); bioinformation analysis

蛋白质的翻译后修饰(posttranslational modification)与其稳定性和生理功能的正确行使息息相关<sup>[1-3]</sup>。棕榈酰化修饰是众多翻译后修饰形式中最常见且可逆的脂质修饰类型,影响着蛋白质的疏水性、稳定性与活性,从而在蛋白质定位、转运及蛋白互作等方面发挥着重要调节作用<sup>[4-5]</sup>,其可逆性增加了对底物蛋白调控的动态性和精确性<sup>[6]</sup>,最终影响蛋白质的各种生理功能。蛋白质棕榈酰基转移酶(protein s-acyltransferases, PATs)和棕榈酰硫酯酶 2 种相反类型的酶动态调节棕榈酰化修饰<sup>[7]</sup>。研究表明多数 DHHC 型锌指蛋白家族成员具有 PAT 活性,该家族是一类富含 DHHC-CRD(半胱氨酸富集域)的蛋白,具有 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> 型锌指结构特征,在不同物种间具有遗传保守性,高度保守的 DHHC-CRD(C-X<sub>2</sub>-C-X<sub>9</sub>-HC-X<sub>2</sub>-C-X<sub>2</sub>-C-X<sub>4</sub>-DHHC-X<sub>5</sub>-C-X<sub>4</sub>-N-X<sub>3</sub>-F, X 为非保守氨基酸)残基是酶活性的关键决定位点<sup>[6,8-9]</sup>。

蛋白质棕榈酰基转移酶(PAT)最早发现于酿酒酵母中, A. F. Roth *et al*<sup>[10]</sup>发现酵母 DHHC 型锌指蛋白 Akr1p 具有 PAT 活性,对维持酵母细胞形态具有重要作用。研究表明棕榈酰化修饰在真核生物中涉及广泛的细胞功能<sup>[11-12]</sup>。对植物蛋白质组学研究发现植物中存在大量的棕榈酰化蛋白,涉及植物的生长发育、器官形成、胁迫响应等众多生命活动<sup>[13]</sup>。异三聚体 G 蛋白是一种非常重要的信号转导成分,参与细胞分裂、病原体防御、激素信号转导等过程,在拟南芥中,其靶向质膜需要依赖棕榈酰化修饰<sup>[14]</sup>。ROP 是高等植物体内广泛存在的一类信号转导 G 蛋白,在植物的生长发育、逆境响应、激素应答等方面具有重要调控作用,其亚细胞定位情况与棕榈酰化修饰密切相关<sup>[15]</sup>。CDPK 蛋白和 CBL 蛋白参与植物钙离子信号传导,棕榈酰化修饰在其生物功能的正确行使过程中具有重要作用<sup>[16-17]</sup>。

油茶(*Camellia oleifera*)为山茶科(Theaceae)山茶属(*Camellia*)常绿灌木或小乔木,是我国重要的木本食用油料树种<sup>[18-19]</sup>。目前尚未发现有关油茶

DHHC 型锌指蛋白基因家族的研究报道。本研究基于不同结实量的油茶叶片转录组数据,在转录组水平上挖掘油茶 DHHC 型锌指蛋白基因,对其进行相关生物信息学分析,为后期深入、系统地研究 DHHC 型锌指蛋白基因家族在油茶生长发育、器官形成、逆境响应等过程中所发挥的调控功能提供一定的理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料为种植于贵州省玉屏县茶花泉油茶基地的盛产期长林 23 号普通油茶无性系(气候、种植条件一致),选取生长良好、长势一致而结实量差异较大的单株,在抽梢期、花芽分化期、果实成熟期分别采集植株中上部的叶片,取样后液氮速冻-80℃保存备用。

### 1.2 试验方法

1.2.1 DHHC 型锌指蛋白基因家族鉴定 普通油茶转录组数据由本团队测序获得(相关数据未发表),共拼接组装获得 275 805 个 unigenes。利用 Phytozome12 基因组数据库(<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>)下载模式植物拟南芥和水稻的 DHHC 型锌指蛋白基因序列,将其作为探针序列,利用本地 Blast 软件在油茶转录组数据中进行 blast 搜索比对。同时,利用关键词“protein S-acyltransferase”和“DHHC”进行直接检索,去除重复序列,筛选出油茶 DHHC 型锌指蛋白家族基因,利用 SMART 和 CCD 对蛋白保守结构域进行鉴定,剔除不含 DHHC 型锌指蛋白基因家族特征结构域的基因。

1.2.2 DHHC 型锌指蛋白基因家族的生物信息学分析 对筛选出的油茶 DHHC 型锌指蛋白基因,利用 Expasy Prot Param 等生物信息学软件对其蛋白基本理化性质、保守结构域、亚细胞定位、系统进化关系等进行分析(表 1)。

表 1 基因生物信息学分析软件

Table 1 Gene bioinformatics analysis software

分析项目	生物信息学软件
基本理化性质分析	Expasy ProtParam( <a href="http://web.expasy.org/protparam/">http://web.expasy.org/protparam/</a> )
保守基序分析	MEME5. 1. 1( <a href="http://meme-suite.org/tools/meme">http://meme-suite.org/tools/meme</a> )
功能注释	CCD( <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi</a> )
信号肽分析	SignalP 4. 1 Server( <a href="http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/">http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/</a> )
跨膜区分析	TM-HMM Server v. 2. 0( <a href="http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/">http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/</a> )
	TMpred( <a href="https://embnet.vital-it.ch/software/TMPRED_form.html">https://embnet.vital-it.ch/software/TMPRED_form.html</a> )
亚细胞定位	Plant-mPLoc Server( <a href="http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/#">http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/plant-multi/#</a> )
系统进化树构建	MEGA6. 0

2 结果与分析

2.1 油茶 DHHC 型锌指蛋白基因家族的鉴定

通过对油茶转录组数据库的本地 blast 比对检索和关键词搜索,共获得 63 条 DHHC 型锌指蛋白基因序列,通过 SMART 和 CCD 对保守结构域的筛选,获得 23 个具有完整 DHHC 型锌指结构的序列。为方便研究,按照转录组 unigene 中的基因 ID 大小顺序统一编号(*CoDHHC1*~23)(表 2)。分离得到的 23 个 DHHC 型锌指蛋白基因大小为 731 (*CoDHHC1*)~2 994 bp(*CoDHHC17*)。利用 Ex-

pasy ProtParam 对 DHHC 型锌指蛋白基因家族编码的氨基酸进行理化性质分析,23 个基因编码蛋白的氨基酸数量为 194~725 aa。预测的理论分子量大小为 21. 89~78. 44 ku。等电点大小为 5. 18~10. 01,其中只有 3 个 *CoDHHC* 蛋白等电点小于 7,显酸性,其余 20 个 *CoDHHC* 蛋白等电点均大于 7,显碱性,表明不同的 DHHC 蛋白在不同的微环境中生物学功能存在差异。不稳定指数分析表明,有 10 个 *CoDHHC* 蛋白的不稳定指数大于 40,为不稳定蛋白,其余 13 个 *CoDHHC* 蛋白为稳定蛋白。平均疏水指数为-0. 541~0. 503,其中 10 个 *CoDHHC* 蛋白的平均疏水指数大于 0,为疏水性蛋白,其余 13 个蛋白为亲水性蛋白。

表 2 油茶 DHHC 型锌指蛋白基因家族信息

Table 2 DHHC gene family information of *C. oleifera*

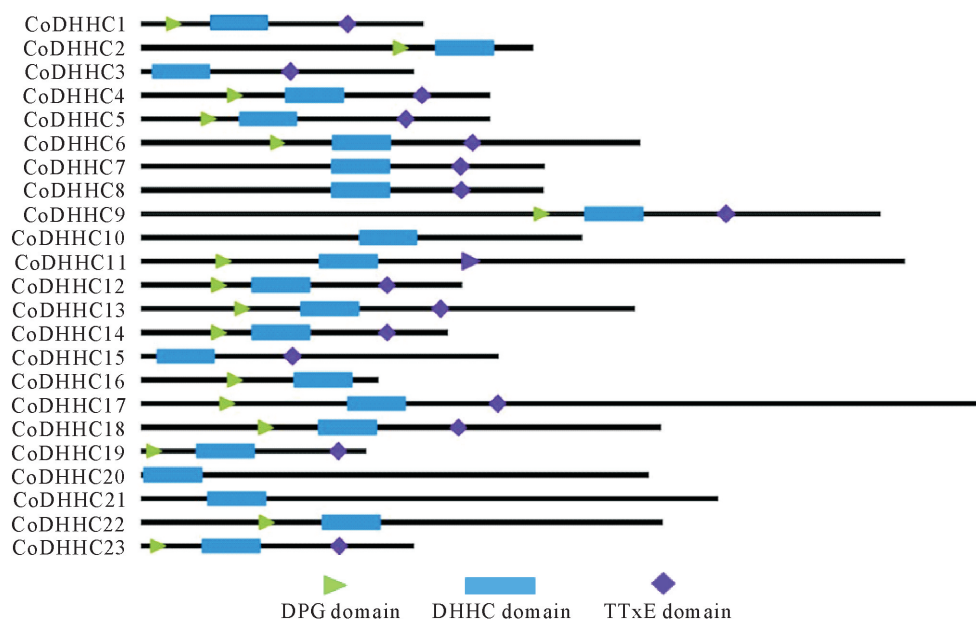
基因名称	基因 ID	氨基酸数目/aa	分子量/ku	等电点	不稳定指数	脂肪系数	平均疏水指数(GRAVY)	DPG结构域	DHHC结构域	TTxE结构域	跨膜区	亚细胞定位
<i>CoDHHC1</i>	DN28022_c0_g1	243	27. 50	8. 58	48. 71	86. 67	-0. 063	26~28	62~109	176~179	2	细胞核
<i>CoDHHC2</i>	DN64633_c0_g1	337	38. 40	8. 92	37. 57	90. 36	0. 131	223~225	255~302		4	细胞核
<i>CoDHHC3</i>	DN74207_c0_g2	235	26. 83	10. 01	33. 92	67. 70	-0. 541		11~58	127~130	2	细胞核
<i>CoDHHC4</i>	DN92343_c0_g1	300	33. 81	9. 05	42. 02	89. 73	0. 064	78~80	127~174	240~243	4	细胞膜
<i>CoDHHC5</i>	DN101022_c0_g1	300	33. 20	8. 75	30. 70	97. 93	0. 320	55~57	86~133	226~229	4	细胞膜
<i>CoDHHC6</i>	DN110812_c1_g2	429	48. 51	8. 72	43. 58	79. 25	-0. 085	115~117	167~214	283~286	4	高尔基体、细胞核
<i>CoDHHC7</i>	DN111063_c3_g1	347	39. 78	8. 78	42. 59	95. 79	0. 165		165~212	274~277	4	细胞核
<i>CoDHHC8</i>	DN111063_c3_g2	346	39. 83	8. 70	39. 60	94. 71	0. 165		165~212	274~277	4	细胞核
<i>CoDHHC9</i>	DN113343_c1_g2	635	69. 39	6. 24	33. 72	87. 62	-0. 148	344~346	383~430	502~505	4	细胞核
<i>CoDHHC10</i>	DN114914_c2_g1	379	42. 27	9. 10	39. 99	90. 34	0. 235		189~236		4	细胞膜
<i>CoDHHC11</i>	DN115815_c0_g1	656	71. 42	8. 53	53. 82	71. 94	-0. 321	71~73	156~203	282~285	4	细胞核
<i>CoDHHC12</i>	DN116100_c0_g1	276	31. 17	8. 83	47. 18	103. 41	0. 326	66~68	98~145	210~213	4	细胞膜
<i>CoDHHC13</i>	DN116689_c1_g2	424	48. 39	8. 36	47. 67	81. 98	-0. 184	87~89	140~187	256~259	4	细胞核
<i>CoDHHC14</i>	DN117057_c0_g1	264	29. 92	8. 42	39. 60	95. 19	0. 219	66~68	98~145	210~213	4	细胞膜
<i>CoDHHC15</i>	DN117454_c1_g7	307	35. 47	5. 18	36. 94	72. 93	-0. 409		16~63	129~132	2	细胞核
<i>CoDHHC16</i>	DN117684_c2_g1	204	23. 18	8. 25	32. 44	103. 58	0. 503	80~82	134~181		3	细胞膜、细胞核
<i>CoDHHC17</i>	DN117690_c5_g1	725	78. 44	8. 38	55. 10	79. 86	-0. 167	71~73	179~226	305~308	4	细胞核
<i>CoDHHC18</i>	DN118353_c0_g1	447	49. 90	8. 88	39. 21	84. 32	-0. 035	106~108	155~202	271~274	4	细胞膜、细胞核
<i>CoDHHC19</i>	DN119244_c1_g1	195	21. 89	8. 91	31. 87	84. 00	0. 026	10~12	49~96	168~171	4	细胞核
<i>CoDHHC20</i>	DN120422_c0_g1	436	48. 05	9. 46	56. 79	84. 33	-0. 198		4~51		2	细胞核
<i>CoDHHC21</i>	DN120422_c0_g2	496	54. 58	8. 57	60. 00	75. 67	-0. 327		60~107		1	细胞核
<i>CoDHHC22</i>	DN121240_c0_g1	448	49. 87	8. 73	34. 78	78. 91	-0. 158	107~109	157~204		4	高尔基体、细胞核
<i>CoDHHC23</i>	DN121450_c0_g1	235	27. 19	6. 07	45. 60	77. 96	-0. 115	13~15	55~102	169~172	2	细胞核

亚细胞定位分析表明,CoDHH1 等 14 个蛋白在细胞核中有分布,CoDHH4 等 5 个蛋白在细胞膜中有分布,而 CoDHH6 和 CoDHH22 在高尔基体中有分布,在细胞核中也有分布,CoDHH16 和 CoDHH18 在细胞膜中有分布,在细胞核中也有分布。总的来说,CoDHH 蛋白的氨基酸序列及蛋白特性变化均存在一定差异,表明油茶 DHHC 型锌指蛋白基因家族蛋白具有不同特性。

## 2.2 油茶 DHHC 型锌指蛋白保守结构域和基序分析

通过 NCBI 的 CCD 数据库对 *CoDHH* 基因

家族编码蛋白的保守结构域进行分析,23 个 CoDHH 均含有 DHHC 型锌指蛋白家族典型的 DHHC—CRD(半胱氨酸残基聚集域)结构域,多数成员同时还含有 DPG 和 TTxE(x 为任意氨基酸)结构域,与具有蛋白质酰基转移酶活性的蛋白所特有的结构域相符。其中 CoDHH1/4/5/6/9/11/12/13/14/17/18/19/23 同时含有 3 个结构域,占油茶 *CoDHH* 基因家族总数的 56.52%,CoDHH2/16/22 只含有 DPG 和 DHHC 结构域,CoDHH3/7/8/15 只含有 DHHC 和 TTxE 结构域,而 CoDHH10/20/21 仅含 DHHC 结构域(表 2,图 1)。



注:三角形代表 DPG 结构域,长方形代表 DHHC 结构域,菱形代表 TTxE 结构域。

图 1 油茶 DHHC 型锌指蛋白基因家族蛋白结构分析

Fig. 1 Analysis of DHHC gene family protein structure in *C. oleifera*

利用在线软件 MEME5.1.1 分析 CoDHH 蛋白中的保守基序(图 2、图 3),结果表明,23 个油茶 DHHC 基因家族成员之间所包含的保守基序(motif)数目及种类存在一定的差异,其中 *CoDHH10* 只含有 motif 1 和 motif 3 这 2 个保守基序。所有 CoDHH 蛋白成员均含有 motif 1,19 个成员含有 motif 2,19 个成员含 motif 3。4 个成员含 motif 4,5 个成员含 motif 5,5 个成员含 motif 6,20 个成员含 motif 7,4 个成员含 motif 8,4 个成员含 motif 9,4 个成员含 motif 10,2 个成员含 motif 11,2 个成员含 motif 12,2 个成员含 motif 13,4 个成员含 motif 14,5 个成员含 motif 15,2 个成员含 motif 16,2 个成员含 motif 17,4 个成员含 motif 18,3 个成员含 motif 19,3 个成员含 motif 20。出现频率越高的 motif 在油茶 DHHC 型锌指蛋白基因家族中越重要,如出现频率较高的 motif 1 和 motif 3 组成 DHHC 型锌指蛋白家族的特征结构域(DHHC-CRD)。

## 2.3 油茶 DHHC 型锌指蛋白基因家族进化关系分析

为更好地了解油茶 DHHC 型锌指蛋白基因家族各成员之间的进化关系以及生物学功能的相关性,利用 MEGA7 软件对筛选的 23 个油茶 DHHC 型锌指蛋白基因家族成员和拟南芥及水稻的 DHHC 型锌指蛋白基因家族成员构建系统进化树(图 4)。结果表明,23 个油茶 DHHC 型锌指蛋白可以划分为 4 个亚组,每个亚组均有油茶、拟南芥和水稻分布,Group I 包含有 2 个 DHHC 型锌指蛋白基因家族成员,占家族总数的 8.70%;Group II 包含有 8 个成员,占家族总数 34.78%;Group III 包含 6 个成员,占家族总数总数的 26.09%;Group IV 包含有 7 个成员,占家族总数 30.43%。其中第 II 亚族的 *CoDHH7* 和 *CoDHH8* 的同源性最高,第 III 亚族的 *CoDHH5*、*CoDHH12*、*CoDHH14* 的同源性较高,第 IV 亚族的 *CoDHH13*、*CoDHH18*、





注: Motif 1~20 代表不同的保守氨基酸序列, 每个 motif 中不同位置处出现的氨基酸种类越少, 说明该位置处保守性越高。

图 2 油茶中 DHHC 型锌指蛋白保守基序

Fig. 2 Sequence logos of DHHC domains in *C. oleifera*

*CoDHHC22* 的同源性较高。总的来说进化关系较进的 *CoDHHC* 其氨基酸长度和蛋白结构较相似。

#### 2.4 油茶 DHHC 型锌指蛋白基因家族的表达分析

利用课题组的油茶叶片转录组数据库(数据未发表), 找到候选的 23 个 DHHC 型锌指蛋白基因对应转录本的 RPKM 值, 采用 Heml 热图软件进行热图制作(图 5)。结果显示, 23 个 DHHC 型锌指蛋白

基因在结实量大和结实量小的单株的不同发育时期的叶片中均有不同程度的表达。*CoDHHC9*、*CoDHHC13*、*CoDHHC22* 在油茶抽梢生长期的叶片中表达上调, *CoDHHC6*、*CoDHHC12*、*CoDHHC18*、*CoDHHC23* 在花芽分化时期和果实成熟时期的叶片中表达量较高, 而 *CoDHHC5*、*CoDHHC11*、*CoDHHC15* 在不同时期的叶片中表达量均较低。*CoDHHC3*、*CoDHHC10* 在果实成熟时期即盛花期的叶片中表达上调, 且在结实量小的单株叶片中的表达较结实量大的单株上调明显。

### 3 结论与讨论

基于不同结实量的普通油茶叶片转录组数据, 筛选出 23 个 DHHC 型锌指蛋白基因, 利用生物信息学分析方法对其理化性质、亚细胞定位、蛋白保守结构域、系统进化关系等进行分析。结果表明, 23 个 *CoDHHC* 蛋白均包含 1 个保守的 DHHC-CRD 结构域, 主要定位于细胞核和细胞膜中, 大部分蛋白具有 4 个跨膜区。系统进化分析发现 23 个 DHHC 型锌指蛋白与拟南芥和水稻均有不同程度的同源关系。它们在结实量大和结实量小的单株的不同发育时期叶片中均有不同程度的表达。本研究结果为进一步对油茶 DHHC 型锌指蛋白家族基因的克隆和功能分析奠定了基础。

近年来, 随着越来越多物种全基因组测序的完成, 多个物种已从基因组水平鉴定到 DHHC 型锌指蛋白基因, 该家族成员在不同的物种中数量也不尽相同。其中小立碗藓(*Physcomitrella patens*)中包含 9 个; 裸子植物火炬松(*Pinus taeda*)中包含 13 个; 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中包含 24 个, 水稻(*Oryza sativa*)有 58 个, 杨树(*Populus trichocarpa*)有 39 个, 玉米(*Zea mays*)有 50 个; 双子叶植物苜蓿(*Medicago truncatula*)中包含 9 个, 马铃薯(*Solanum lycopersicum*)有 24 个<sup>[20]</sup>。本研究鉴定得到的 23 个 DHHC 型锌指蛋白基因序列, 均含有 DHHC 蛋白家族典型的 DHHC-CRD(C-X<sub>2</sub>-C-X<sub>9</sub>-HC-X<sub>2</sub>-C-X<sub>2</sub>-C-X<sub>4</sub>-DHHC-X<sub>5</sub>-C-X<sub>4</sub>-N-X<sub>3</sub>-F, X 为非保守氨基酸)结构域, 大部分序列还包含 1 个 DPG 和 TTxE 结构域及 4 个跨膜区, 与具有蛋白质酰基转移酶(PAT)活性的蛋白质所特有的结构域相符, 可能具有 PAT 活性, 通过棕榈酰化修饰在油茶生长发育、逆境响应等过程中起重要调控作用。而部分序列如 *CoDHHC3* 缺少 DPG 结构域且只包含 2 个跨膜区, 因其序列长度可能导致结构域和基序的缺失, 这可能是转录组测序或序列拼接过程中的误差所导致<sup>[21-22]</sup>。

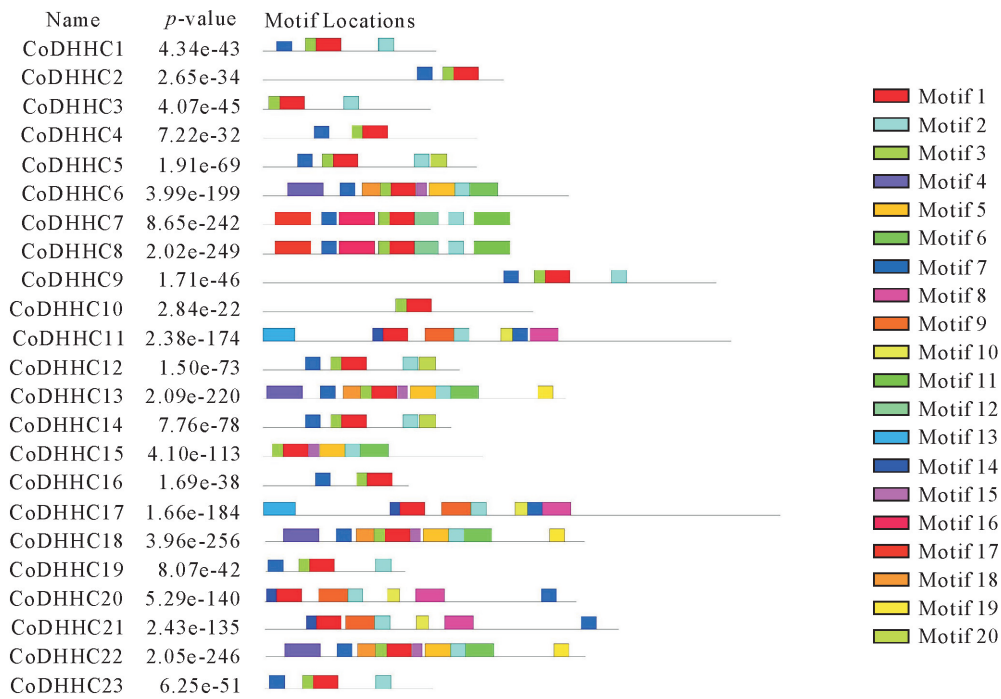


图3 油茶 DHHC 型锌指蛋白基因家族成员保守基序分析

Fig. 3 Distribution of conserved motifs in the DHHC gene family members

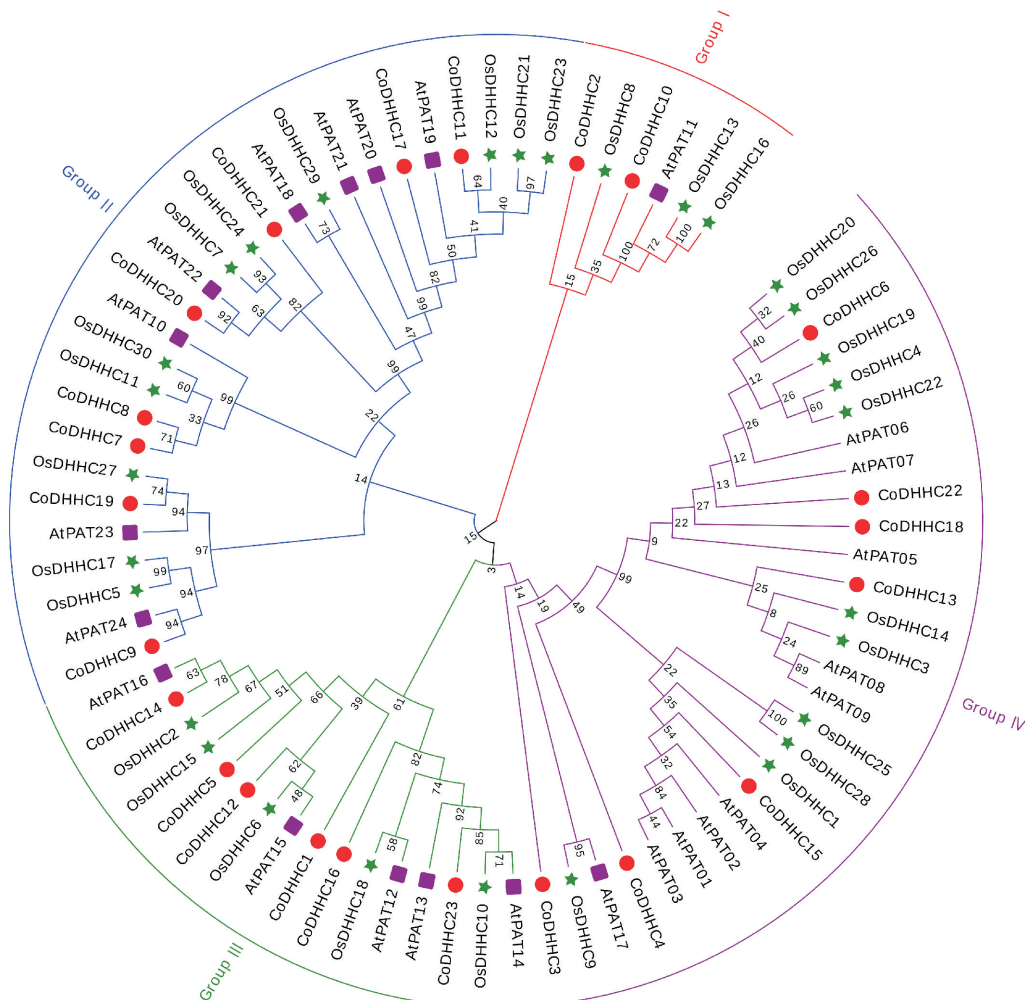
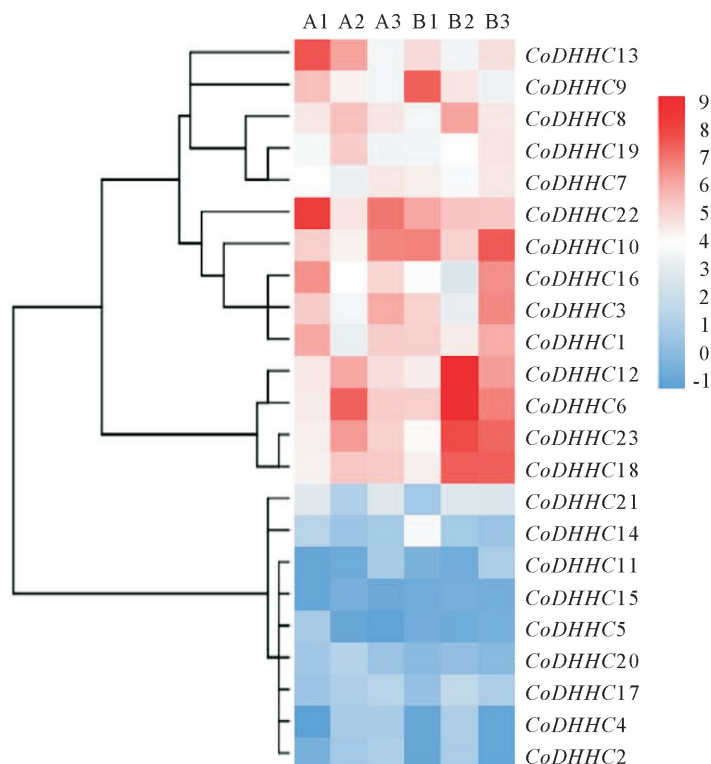


图4 油茶、拟南芥和水稻 DHHC 型锌指蛋白基因家族系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of DHHC in *C. oleifera*, *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*



注:A 为结实量大的单株,B 为结实量小的单株;1. 抽梢期;2. 花芽分化期;3. 果实成熟期

图 5 *CoDHHC* 的表达分析

Fig. 5 The expression analysis of *CoDHHC*

系统进化分析结果表明,23 个油茶 DHHC 型锌指蛋白基因和拟南芥、水稻的 DHHC 蛋白基因被分为 4 个亚类,其与拟南芥和水稻的 DHHC 型锌指蛋白基因均具有不同程度的同源性,可能与 DHHC-CRD 结构域在不同物种间具有较高的遗传保守性有关。*CoDHHC6*、*CoDHHC12*、*CoDHHC18*、*CoDHHC23* 在结实量较小的单株的花芽分化时期和果实成熟时期的叶片中表达量较结实量较大的单株中的表达量明显上调,可能与结实量较小的单株开花数量较多而结实量大的单株花朵数量较少有关,说明这些基因可能参与花芽分化及花朵发育过程。而 *CoDHHC3*、*CoDHHC10* 只在果实成熟时期的叶片中表达上调,而这一时期油茶正处于盛花期,因此它们可能参与花朵发育。Q. Wang *et al.*<sup>[23]</sup> 对拟南芥中 20 个 DHHC 型锌指蛋白基因的组织表达分析发现,AtPAT7 (At3g26935) 在花、成熟果荚、茎中有表达,在花中的表达量较其他组织高。徐嘉娟等<sup>[8]</sup> 研究表明,*LcPAT7* 在鹅掌楸花芽和盛花期的叶片、叶芽、花瓣、雄蕊、雌蕊中均有表达,在花瓣和雌蕊中表达丰度最高。而与 AtPAT7 遗传距离较近的 *CoDHHC6*、*CoDHHC18* 在花芽分化时期和盛花期叶片中表达上调,表明它们可能发挥相似的功能。

研究表明,PATs 在真核生物中具有广泛的细

胞功能,对植物的生长发育、器官形成、生殖发育及胁迫响应等生命活动具有重要的调控作用。P. A. Hemsley *et al.*<sup>[13]</sup> 从拟南芥突变体中分离得到的 DHHC 型锌指蛋白基因 *TIP1* 与酵母的 AKR1p 高度相似性,且存在 PAT 活性,参与拟南芥根毛的发育及细胞的极性生长;研究发现,AtPAT10 (At3g51390) 能够调节 CBLs 蛋白在液泡膜的定位,它的功能缺失会导致拟南芥叶片变小、变矮并且不育,同时还参与植株对外界盐胁迫的响应过程<sup>[6]</sup>。水稻 *OsDHHC1* 具有 PAT 活性,可促进水稻分蘖、构建合理株型,从而增加水稻的产量<sup>[24]</sup>;而 *OsDHHC13* 能促进清除  $H_2O_2$  的相关酶基因表达,调节内源性  $H_2O_2$  的动态平衡,对水稻的抗氧化胁迫能力起正调控作用<sup>[25]</sup>。PATs 功能的发掘为植物株型构建、增产增收以及品质改良等分子设计育种工作提供了新的研究思路和基因资源。本研究利用生物信息学手段从序列同源性和结果相似性方面探讨了油茶 DHHC 型锌指蛋白基因家族的生物学功能,而它们在油茶生长发育、逆境信号响应等过程中的具体功能还有待系统深入的研究。

#### 参考文献:

- [1] SCHONICHEN A, WEBB B A, JACOBSON M P, *et al.* Considering protonation as a posttranslational modification regulating protein structure and function[J]. Annu. Rev. Biophys.,



- 2013,42:289-314.
- [2] BELTRAIO P, ALBANESE V, KENNER L R, *et al.* Systematic functional prioritization of protein posttranslational modifications[J]. Cell, 2012, 150(2): 413-425.
  - [3] 徐嘉娟, 李火根. 鹅掌楸 *LcPAT8* 基因的克隆及功能初步分析[J]. 林业科学, 2017, 53(9): 45-54.  
XU J J, LI H G. Cloning and primary functional analysis of *LcPAT8* gene from *Liriodendron chinense* [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2017, 53(9): 45-54. (in Chinese)
  - [4] ABRAMI L, KUNZ B, IACOVACHE I, *et al.* Palmitoylation and ubiquitination regulate exit of the wnt signaling protein LRP6 from the endoplasmic reticulum[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2008, 105(14): 5384-5389.
  - [5] SMOTRYJ J E, LINDER M E. Palmitoylation of intracellular signaling proteins: regulation and function[J]. Annu. Rev. Biochem., 2004, 73: 559-587.
  - [6] GREAVES J, CHAMBERLAIN L H. DHHC palmitoyl transferases: substrate interactions and (patho) physiology [J]. Trends. Biochem. Sci., 2011, 36(5): 245-253.
  - [7] 丁玉娇, 韩颖颖, 周婧雯. 棕榈酰化蛋白及蛋白质的棕榈酰化研究进展[J]. 亚热带植物科学, 2018, 47(4): 395-403.  
DING Y J, HAN Y Y, ZHOU J W. Progress in research of palmitoylated proteins and protein palmitoylation[J]. Subtropical Plant Science, 2018, 47(4): 395-403. (in Chinese)
  - [8] 徐嘉娟, 李火根. 鹅掌楸 DHHC 型锌指蛋白家族基因的克隆及表达分析[J]. 广西植物, 2016, 36(9): 1052-1060.  
XU J J, LI H G. Gene cloning and expression analysis of DHHC protein family genes from *Liriodendron chinense* [J]. Guihaia, 2016, 36(9): 1052-1060. (in Chinese)
  - [9] PUTILINA T, WONG P, GENTLEMAN S. The DHHC domain: a new highly conserved cysteine-rich motif[J]. Mol. Cell Biochem., 1999, 195(1-2): 219-226.
  - [10] ROTH A F, FENG Y, CHEN L, *et al.* The yeast DHHC cysteine-rich domain protein Akr1p is a palmitoyl transferase [J]. J. Cell Biol., 2002, 159(1): 23-28.
  - [11] HUANG K, EL-HUSSEINI A. Modulation of neuronal protein trafficking and function by palmitoylation [J]. Curr. Opin. Neurobiol., 2005, 15(5): 527-535.
  - [12] LINDER M E, DESCHENES R J. Palmitoylation: policing protein stability and traffic[J]. Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 2007, 8(1): 74-84.
  - [13] HEMSLEY P A, KEMP A C, GRIERSON C S. The TIP Growth Defective1 S-acyl transferase regulates plant cell growth in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2005, 17(9): 2554-2563.
  - [14] PANDEY S, VIJAYAKUMAR A. Emerging themes in heterotrimeric G-protein signaling in plants[J]. Plant Sci., 2018, 270: 292-300.
  - [15] KOST B. Spatial control of Rho (Rac-Rop) signaling in tip-growing plant cells[J]. Trends Cell Biol., 2008, 18(3): 119-127.
  - [16] LUDWIG A A, ROMEIS T, JONES J D. CDPK-mediated signalling pathways: specificity and cross-talk[J]. J. Exp. Bot., 2004, 55(395): 181-188.
  - [17] BATISTIC O, SOREK N, SCHULTKE S, *et al.* Dual fatty acyl modification determines the localization and plasma membrane targeting of CBL/CIPK  $Ca^{2+}$  signaling complexes in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2008, 20(5): 1346-1362.
  - [18] 杨进, 周俊琴, 卢梦琪, 等. 油茶 ABI5 基因的克隆及其表达分析[J]. 植物生理学报, 2020, 56(7): 1583-1592.  
YANG J, ZHOU J Q, LU M Q, *et al.* Cloning and expression analysis of *ABI5* from *Camellia oleifera* [J]. Plant Physiology Journal, 2020, 56(7): 1583-1592. (in Chinese)
  - [19] 刘懿瑶, 周俊琴, 卢梦琪, 等. 油茶 *CoPIF3* 基因的克隆及表达分析[J]. 植物生理学报, 2020, 56(9): 1881-1890.  
LIU Y Y, ZHOU J Q, LU M Q, *et al.* Cloning and expression analysis of *CoPIF3* gene in *Camellia oleifera* [J]. Plant Physiology Journal, 2020, 56(9): 1881-1890. (in Chinese)
  - [20] HEMSLEY P A, GRIERSON C S. Multiple roles for protein palmitoylation in plants[J]. Trends in Plant Science, 2008, 13(6): 295-302.
  - [21] 阮城城, 胡福初, 王祥和, 等. 基于转录组的荔枝 *GRF* 基因家族的鉴定及表达分析[J]. 分子植物育种, 2021, 19(20): 6671-6681.  
RUAN C C, HU F C, WANG X H, *et al.* Identification and analysis of *GRF* transcription factor family based on transcriptome data in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) [J]. Molecular Plant Breeding, 2021, 19(20): 6671-6681. (in Chinese)
  - [22] 谢冬冬, 王武萍, 何学高, 等. 基于转录组的漆树 MYB 转录因子的筛选及分析[J]. 西北林学院学报, 2021, 36(1): 1-9.  
XIE D D, WANG W P, HE X G, *et al.* Screening and analysis of MYB transcription factor based on transcriptome data in *Toxicodendron vernicifluum* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2021, 36(1): 1-9. (in Chinese)
  - [23] WANG Q, SUN J, BAO L, *et al.* Twenty putative palmitoyl-acyl transferase genes with distinct expression patterns in *Arabidopsis thaliana* [J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(52): 10575-10584.
  - [24] 周波. DHHC 型锌指蛋白基因 OsDHHC1 在水稻株型构建中的功能分析[D]. 长沙: 湖南大学, 2011.
  - [25] 刘选明, 王文文, 杨远柱, 等. 水稻 *OsDHHC13* 基因参与氧化胁迫响应的初步研究[J]. 湖南大学学报: 自然科学版, 2016, 43(12): 110-117.  
LIU X M, WANG W W, YANG Y Z, *et al.* Preliminary study on a rice *OsDHHC13* gene involving in the response to oxidative stress [J]. Journal of Hunan University: Natural Sciences, 2016, 43(12): 110-117. (in Chinese)